

150

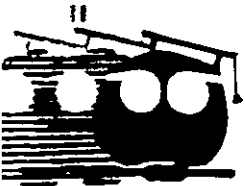


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

LA ACTUAL IMPORTANCIA DE *Streptococcus*
pyogenes EN SALUD PÚBLICA

TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA
PRESENTA:
MARIA ISABEL VALDES ALMAGUER



MEXICO, D. F.



2001

290080

EXAMEN DE CALIFICACION
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente Prof. MA. ELSA ESCUDERO GARCIA

Vocal Prof. SATURNINO DE LEON CHAPA

Secretario Prof. RAÚL GARZA VELASCO

1er suplente Prof. NORMA ANGÉLICA CASTELLANOS CHÁVEZ

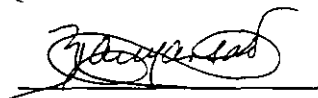
2do suplente Prof. NORMA TREJO MEDINA

Sitio donde se desarrolló el tema:

Bibliotecas de la Facultad de Química, Medicina y del Sector Salud.

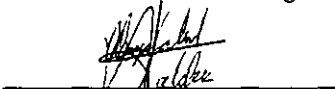
Asesor

Q.F.B. Raúl Garza Velasco



Sustentante

Maria Isabel Valdés Almaguer



AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, Ana María Almaguer, por la vida, el cariño, los sacrificios, los principios y tu apoyo incondicional, por ti he llegado hasta donde estoy.... te quiero mucho.

A mi papá, Apolonio Valdés, por tu cariño, por los principios que me inculcaste, y por los gratos recuerdos que dejaste en mí.....sé que estaría feliz.

A mis hermanos, Gilberto, Raúl, Benito, Alejandra y Arturo, por su cariño y por estar siempre que los necesito.....No sé que hubiera hecho sin ustedes.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de formarme en sus aulas, no solo como futuro profesional si no también como persona.

A mi asesor, Raúl Garza Velasco, por la gran paciencia, el tiempo y el apoyo que me brindó.....Gracias

A Judith y Sergio, por formar parte de la familia y por el apoyo que me han brindado.

A Miguel, Ana, Oscar y Pedro, por su amistad incondicional, por las vivencias y los recuerdos que compartimos, y por lo que nos falta aun.....que espero sea mucho.

A mis amigas, Cirse, Ileana y Flor, por compartir tan diversas vivencias y sobre todo por su amistad. A Paty, Angélica, Araceli, Adriana y Elizabeth por hacerme gratos los últimos semestres y haber conformado desde entonces una amistad sólida.

A Alfredo, Alejandra, Araceli, Claudia, Cristina, Israel, Jaime y Miriam por darme la confianza y seguridad que necesitaba, y su amistad.

A todas esas personas que de una u otra forma han contribuido a mi formación y me han ayudado a ser lo que soyGracias.

A Dios por la oportunidad de vivir y sentir.

ÍNDICE

	PÁGINAS
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	3
I. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Streptococcus</i>	
i. Clasificaciones tradicionales.....	4
ii. Ajustes taxonómicos recientes.....	7
iii. Características microbiológicas e identificación en el laboratorio.....	9
iv. Principales pruebas involucradas en la diferenciación de <i>Streptococcus pyogenes</i>	11
II. PATOLOGÍA ASOCIADA A <i>S.pyogenes</i>	15
III. FACTORES DE PATOGENICIDAD DE <i>S.pyogenes</i>	
i. Colonización de piel y garganta.....	23
ii. Capacidad para inducir severos procesos inflamatorios	25
iii. <i>S. pyogenes</i> versus las defensas del hospedador.....	26
iv. La exotoxina pirogénica estreptocócica (Spe).....	28
v. Fagos de <i>S. pyogenes</i>	31
vi. Invasión intracelular.....	33
vii. Ags de reacción cruzada.....	51
viii. Regulación de los genes bacterianos de virulencia.....	64
IV. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	

i.	Antibióticoterapia.....	67
ii.	Avances en el diseño de vacunas.....	69
V.	CONCLUSIONES.....	72
	BIBLIOGRAFÍA.....	77

INTRODUCCIÓN

Los estreptococos del grupo A (GAS) constituyen los principales agentes patógenos del género *Streptococcus*, ya que ocasionan al humano un gran número de entidades clínicas, las cuales incluyen desde una aguda y recurrente faringitis o piodermatitis, hasta cuadros más severos tales como otitis, abscesos retronasales, gangrena, fiebre puerperal, fiebre escarlatina, septicemia, síndrome del shock tóxico, fiebre reumática y glomerulonefritis.

S. pyogenes cuenta con una especial capacidad para invadir tejidos conectivos, e inclusive, para sobrevivir y propagarse en la sangre humana; en estos casos, el microorganismo libera sus exotoxinas superantigénicas directamente en el sistema circulatorio y éstas sobre-estimulan a los linfocitos, con lo cual estos provocan graves shocks mediados por citocinas.

Otro factor relevante de virulencia de los GAS es su proteína M, responsable primaria de la resistencia del microorganismo al proceso de fagocitosis ligado a los neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) pero, adicionalmente, la causa más importante de las secuelas post-infecciosas, incluida la miocarditis de origen autoinmune.

En los pasados quince años, la incidencia de las afecciones infecciosas estreptocócicas y de la fiebre reumática se ha modificado muy notablemente, abarcando una nueva entidad clínica: el síndrome del shock tóxico. Así, el resurgimiento de las antiguas enfermedades por el GAS ha dado lugar a toda una corriente de investigación de la epidemiología molecular ligada al actual proceso.

El genoma de los estreptococos no corresponde a una estructura rígida con información genética estable sino, más bien, a una base muy dinámica que refleja trascendentales y complejos procesos evolutivos. Sus elementos genéticos móviles incluyen plásmidos, elementos de inserción (IS), transposones y, sobre todo, fagos, que confieren plasticidad al genoma para crear nuevas cepas.

El presente trabajo pretende describir los aspectos más importantes del resurgimiento de *S. pyogenes*, como uno de los agentes etiológicos de enfermedades infecciosas graves, haciendo énfasis en los descubrimientos más recientes sobre sus diversos factores de patogenicidad.

OBJETIVOS

- Señalar las principales pruebas microbiológicas asociadas a la identificación de *Streptococcus pyogenes* en el laboratorio, subrayando sus respectivos fundamentos.
- Describir los aspectos más relevantes de la patogenia relacionada con la fiebre reumática, la glomerulonefritis y el síndrome del choque tóxico, aludiendo a la función de las moléculas estreptocócicas involucradas, así como a los hallazgos recientes sobre la reproducción intracelular de *Streptococcus pyogenes* y a la trascendencia de esta especie en su actual persistencia epidemiológica.
- Describir los principales factores de virulencia asociados a los estreptococos del grupo A, haciendo énfasis en sus adhesinas, invasinas, agresinas, toxinas y proteínas de reactividad cruzada y mencionando la importancia de los bacteriófagos en la patogenicidad de este microorganismo.

I. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO *Streptococcus*

i. Clasificaciones tradicionales

Esquema de Lancefield

La pared celular de los estreptococos se encuentra constituida por tres capas, la más interna de las cuales corresponde a un mucopéptido bacteriano clásico y, la más externa, a una mezcla de proteínas denominadas M, T y R, cuyas estructuras determinan el serotipo de cada cepa; por su parte, la intermedia se conoce como carbohidrato "C" y representó la base para que, en 1933, Rebeca Lancefield diseñara una metodología relativamente sencilla para clasificar a los diversos integrantes de este género (49,127).

En resumen, la técnica implicada consistía en preparar cultivos líquidos puros de 24 h de los estreptococos aislados, a fin de someterlos a la acción de HCl 0.2 N en caliente y, por ende, extraer su carbohidrato "C"; posteriormente, éste se inoculaba en conejos y, previa sangría del animal, se obtenía el suero que contenía los anticuerpos (Acs) anti-carbohidrato "C" (127).

Lógicamente, el primer suero que se preparó recibió el nombre de suero anti-A, motivo que condujo a la designación de grupo "A" a todos aquellos aislamientos estreptocócicos cuyo carbohidrato "C" reaccionaba positivamente con dicho suero. Secuencialmente, el hecho de que algunas cepas no reaccionaban con el suero anti-A, generó la necesidad de obtener los sueros anti-B, anti-C, anti-D y anti-E, mismos que originaron el establecimiento de los grupos correspondientes.

Finalmente, los grupos restantes (del F al V) fueron definidos en etapas posteriores, por otros infectólogos quienes continuaron aplicando la misma metodología de R. Lancefield.

Esquema de Brown

De acuerdo con este esquema, los estreptococos pueden subdividirse en tres clases, dependiendo del tipo de hemólisis que aquéllos producen en las placas de gelosa sangre de carnero.

En tal contexto, es oportuno recordar que las hemolisinas elaboradas por estos microorganismos se denominan "estreptolisinas" y que, de ellas, existen 2 tipos:

- La estreptolisina "S", la cual es activa en presencia de O₂ y no posee propiedades inmunogénicas, y

- La estreptolisina "O", que es inmunógena e inactiva en presencia de O₂.

En general, se acepta que, en relación con la elaboración de estreptolisinas, la mayoría de las cepas estreptocócicas muestra alguno de las siguientes características:

- a) Producción de ambas estreptolisinas.
- b) Síntesis de estreptolisina "S".
- c) Incapacidad para producir estreptolisina alguna.

A este respecto, las cepas cuyo comportamiento se describe en el inciso "a" producen hemólisis total o β , ya que destruyen los eritrocitos que circundan sus colonias, desde la superficie del agar -a través de la estreptolisina S, que es activa en presencia de O₂-, hasta la parte profunda de la placa -en donde la presión de O₂ tiende a cero y la estreptolisina "O" puede actuar eficazmente- (93).

Los estreptococos que exhiben el comportamiento citado en el inciso "b" producen hemólisis parcial o α , debido a que sólo destruyen los glóbulos rojos que se localizan en la parte superficial del agar. Cabe mencionar que, además, la hemólisis parcial suele presentar una coloración verdosa porque, durante el proceso, la hemoglobina sólo es transformada a biliverdina y no hasta bilirrubina -como ocurre

en presencia de cepas β hemolíticas-. Por esta razón, es costumbre referirse genéricamente a todos los estreptococos α hemolíticos -exceptuando a *S. pneumoniae*-, como estreptococos del grupo *Viridans* (del latín *viride*, que significa “verde”) (93).

Por lo que respecta a las cepas que no producen hemólisis alguna (inciso “c”), éstas se denominan simplemente "no hemolíticas" o N.H., aunque un pequeño número de autores aún emplea la designación de “ γ hemolíticas”(93).

Por último, es conveniente señalar que la sangre de carnero es la apropiada para estudiar el tipo de hemólisis de los estreptococos, puesto que los ovinos no son susceptibles de infección por estos microorganismos y, consecuentemente, no es posible que la sangre de estos animales contenga Acs en contra de la estreptolisina inmunógena (la estreptolisina "O"), los cuales neutralizarían su acción (93).

ii. Ajustes taxonómicos recientes

Lógicamente, los nuevos estudios taxonómicos de índole molecular han originado ciertas modificaciones en la clasificación de los estreptococos, algunas de las cuales involucran a los enterococos (considerados anteriormente estreptococos del grupo D) y a los lactococos (antes grupo N); es decir que, en la actualidad, ambos

microorganismos residen dentro de sus propios géneros: *Enterococcus* y *Lactococcus*, respectivamente (131).

No obstante, los criterios recientes también incluyen a los estreptococos beta-hemolíticos, ya que se ha comprobado que aún algunas especies no relacionadas con el género pueden producir antígenos idénticos (Ags) de Lancefield y que, por otra parte, ciertas cepas estreptocócicas llegan a presentar epítomos que antes se consideraban específicos de grupos ajenos a ellas.

En particular, actualmente debe considerarse que los aislamientos beta-hemolíticos que presentan Ags de los grupos A, C y G de Lancefield se subdividen en 2 clases: una que forma colonias mayores de 0.5 mm de diámetro y otra que las produce menores de esa medida; en este sentido, las cepas pertenecientes a la primera suelen ser pirogénicas y poseen una gran diversidad de factores de virulencia, en tanto que, las de la segunda (independientemente de que contengan Ags A, C o G) son genéticamente diferentes y ahora se ubican en el denominado grupo “*anginosus*” o “*Streptococcus milleri*”, que incluye a las especies *S. anginosus*, *S. intermedius* y *S. Constellatus* (131).

Lógicamente, a pesar de los ajustes anteriores, los rasgos fenotípicos tales como el tipo de hemólisis y el grupo de Lancefield continúan siendo útiles para llevar a

cabo la identificación de los estreptococos en el laboratorio, pero es necesario que la estrategia general tome en cuenta las acotaciones recientes (131).

iii. Características microbiológicas e identificación en el laboratorio

Los estreptococos son células esféricas Gram positivas de 0.5 a 1 μ de diámetro, capsuladas, inmóviles y no esporuladas, cuya agrupación característica en cadenas largas sólo se manifiesta en las preparaciones provenientes de muestras biológicas o de cultivos líquidos.

Además, figuran entre las bacterias más delicadas y exigentes, motivo por el cual, los medios adecuados para su aislamiento deben complementarse con líquidos orgánicos que incrementen su contenido en sustratos disponibles; en este sentido, la sangre de carnero representa el complemento más apropiado puesto que, además de su elevado contenido en nutrimentos, permite observar el tipo de hemólisis de las colonias microbianas.

Ciertamente, los estreptococos son facultativos y mesófilos; por ello, su primoaislamiento requiere de incubaciones a 35°C, durante 24 a 48 h, después de las cuales forman colonias circulares menores de 2 mm de diámetro, translúcidas,

grisáceas, convexas, de bordes regulares que, según la generalidad de los autores, semejan pequeñas gotas de rocío.

Como se ha mencionado, la diferenciación del tipo de hemólisis es muy importante en estos microorganismos, porque aún cuando dicha característica no resulta suficiente para discriminar entre las distintas especies, sí constituye un dato relevante para seleccionar las pruebas que permiten efectuar la identificación correspondiente.

Relación entre especie, grupo de Lancefield y tipo de hemólisis

Una vez que se ha mencionado la existencia de diversas especies estreptocócicas y de que se han descrito los aspectos fundamentales de las 2 clasificaciones más importantes de estos microorganismos, es oportuno subrayar que cada especie

pertenece a un determinado grupo de Lancefield y que, generalmente, manifiesta o no algún tipo de hemólisis. Dicha relación se resume en la tabla 1.

iv. Principales pruebas involucradas en la diferenciación de *Streptococcus pyogenes*.

A continuación se describen los aspectos más importantes de las principales pruebas de identificación de los GAS. Es preciso tomar en cuenta que, la realización de la mayoría de ellas, sólo es congruente cuando la colonia a identificar ha sido reconocida plenamente como *Streptococcus*.

Tabla 1. Grupos de Lancefield y tipos de hemólisis asociados a las principales especies del género *Streptococcus*

Gpo.	Colonia	Especie	PYR	VP ^a	CAMP	Hemól
A	grande	<i>S. pyogenes</i>	+	-	-	β
A	pequeña	Gpo. <i>Anginosus</i> ^b	-	+	-	β
B	grande	<i>S. agalactiae</i>	-	-	+	β
C	grande	<i>S. dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>	-	-	-	β
C	pequeña	Gpo. <i>Anginosus</i> ^b	-	+	-	β
D	---	<i>S. bovis</i>	-	-	-	N.H.
F	pequeña	Gpo. <i>Anginosus</i> ^b	-	+	-	β
G	grande	<i>S. dysgalactiae</i> subsp <i>equisimilis</i>	-	-	-	β
G	pequeña	Gpo. <i>Anginosus</i> ^b	-	+	-	β
H	---	<i>S. sanguis</i>	-	-	-	α
K	---	<i>S. salivarius</i>	-	-	-	α

CLAVE: ^a = No existen datos confiables para la prueba de Voges-Proskauer aplicada a *S. agalactiae*; ^b = Al grupo *Anginosus* también se le conoce como *Streptococcus milleri*.

Sensibilidad a 0.02 - 0.04 U ($\mu\text{g/ml}$) de bacitracina

La prueba se emplea para diferenciar a los estreptococos del grupo A de Lancefield, dado que este grupo es incapaz de desarrollar a esas concentraciones de dicho antibiótico.

La elección de esta prueba depende de que el estreptococo a probar haya producido colonias mayores de 0.5 mm de diámetro y manifestado una hemólisis tipo β en la placa de aislamiento. Para realizarla, es necesario obtener un cultivo líquido puro de 24 h -en caldo cerebro corazón (BHI)- del estreptococo problema, a partir del cual se siembra masivamente -con hisopo o con asa- toda la superficie de una placa de gelosa sangre, sobre la cual posteriormente se coloca, en condiciones asépticas, un disco que contenga 0.02 a 0.04 U de bacitracina -de distribución comercial- (55).

Una vez que la placa se ha incubado a 35°C, durante 18 a 24 h, se procede a realizar la lectura: la prueba se considerará positiva si alrededor del disco se observa un halo de inhibición de, por lo menos, 10 mm de diámetro.

Entre las precauciones necesarias para realizar esta prueba, destaca la de asegurarse de no colocar discos que contengan una mayor concentración de bacitracina -los

cuales también se distribuyen comercialmente para realizar antibiogramas- y, desde luego, la de no leer después del tiempo señalado y la de considerar que este método de identificación tiene una confiabilidad aproximada de 85 %.

Voges-Proskauer

La prueba VP (Voges-Proskauer) para la producción de acetoina ayuda a distinguir las colonias beta-hemolíticas del grupo Anginosus, de aquellos estreptococos que realmente pertenecen a los grupos A, C o G de Lancefield.

Facklam y Washington han descrito una variante de dicha prueba para aplicarla a los estreptococos y, concretamente, consiste en inocular la mayor parte del crecimiento microbiano obtenido en placa después de 24 h de incubación, en 2 mL de caldo RMVP (Rojo de metilo Voges-Proskauer).

Transcurridas 6 h de incubación a 35°C en el RMVP, se agregan el α -naftol y la potasa al tubo y, finalmente, éste se agita e incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos.

La prueba se considera positiva si el contenido del tubo adquiere una coloración roja o rosa (55).

PYR

Esta prueba, conocida también como de la pirrolidonil-aminopeptidasa, se utiliza para identificar a los GAS, dado que éstos son los únicos estreptococos de origen humano que la dan positiva.

No obstante, previendo la posibilidad de que otras especies bacterianas pudieran estar presentes en la muestra, el ensayo contempla la necesidad de realizarlo a partir de cultivos puros de estreptococos beta-hemolíticos.

La enzima pirazinamidasa hidroliza a la pirazinamida generando ácido pirazinoico, el cual puede detectarse adicionando sulfato ferroso amoniaco al medio de cultivo y la prueba se considera positiva cuando se forma una coloración rosada en el término de algunos minutos (55).

II. PATOLOGÍA ASOCIADA A *S. pyogenes*

Fiebre reumática y glomerulonefritis

Por lo regular, la literatura autorizada se refiere a la fiebre reumática y a la glomerulonefritis como “enfermedades autoinmunes provocadas por *S. pyogenes*”, subrayando que ambas son originadas porque las células estreptocócicas que se encuentran colonizando la faringe son sometidas a un continuo proceso de lisis (producto de la inflamación) y, consecuentemente, buena parte de sus fragmentos ingresa al torrente circulatorio, en donde induce una respuesta generalizada de Acs (5, 13).

De hecho, los enfermos presentan elevados niveles de Acs dirigidos contra la estreptolisina O (STO) y otras moléculas liberadas por el microorganismo, incluida la proteína M, de la que, por cierto, se han detectado al menos 90 serotipos diferentes, aunque sólo algunos de ellos se asocian a cepas causantes de fiebre reumática (14, 62).

La proteína M, frecuentemente relacionada con dicha enfermedad, incluye epítomos que presentan reacción cruzada con ciertos segmentos peptídicos localizados en la

miosina cardiaca y en algunas proteínas membranales del hospedador; por tal motivo, las células T y los Acs que reconocen tales epítomos se fijan a los tejidos del corazón y ocasionan una respuesta inflamatoria que daña las válvulas cardiacas (3, 53, 86).

De esa manera, se explica el carácter autoinmune de la fiebre reumática y lo prolongado del lapso que transcurre entre la infección faríngea y el inicio de los síntomas cardiacos (53).

Por su parte, en los individuos con glomerulonefritis, los elevados niveles de los Acs anti-estreptococos interactúan con los Ags circulantes en la sangre, produciendo complejos antígeno-anticuerpo que se depositan y acumulan en los riñones (135).

Lógicamente, los inmunocomplejos, observados generalmente en los glomérulos, inducen una respuesta inflamatoria que ataca al tejido renal e interfiere la función de los riñones; por ello, es común detectar la reducción de C3 y de otros componentes del complemento en los individuos afectados (2, 30, 39).

Es importante tomar en cuenta que una nueva teoría, la cual cada vez resulta más aceptada, establece que ambas enfermedades son originadas por las toxinas estreptocócicas (53).

En este sentido, el principal argumento en contra de la nueva hipótesis radica en el tiempo que transcurre entre la infección inicial y el desarrollo de la fiebre reumática (varias semanas) o de la glomerulonefritis (aproximadamente 10 días) ya que, comúnmente, los síntomas asociados a toxinas aparecen muy pronto, dentro de la primera semana de la infección; en tal contexto, la nueva teoría es más aceptada para explicar lo que ocurre en la glomerulonefritis (5).

De cualquier manera, *S. pyogenes* produce varias proteínas que podrían dañar de forma directa los tejidos del hospedador, destacando la STO, la estreptoquinasa y las toxinas pirogénicas; por ejemplo, la STO es una citotoxina cuyo mecanismo de acción y secuencia de aminoácidos son similares a los de la neumolisina: forma poros en la estructura superficial de los eritrocitos y otras células, conduciendo a su ineludible destrucción. Además, la inyección de STO daña el tejido cardíaco de los animales de experimentación, por lo que ese mismo efecto podría ocurrir en el humano quien, por cierto, evidencia una gran concentración sérica de anti-STO cuando adquiere fiebre reumática (4, 51, 93).

Por lo que se refiere a la estreptoquinasa, se trata de una enzima hidrolítica que convierte al plasminógeno en plasmina y ocasiona glomerulonefritis en animales (38, 108).

Finalmente, se ha reportado que la toxina pirogénica estreptocócica (Spe) es producida por las cepas de *S. pyogenes* causantes de fiebre reumática y no por las que no se asocian a este padecimiento, e inclusive, algunos trabajos han determinado que mejora la cardiotoxicidad de la STO en los animales (20, 53).

De acuerdo con lo anterior, el origen de ambas enfermedades (fiebre reumática y glomerulonefritis) continúa representando un misterio. Inclusive, aunque se sabe que las recurrencias de fiebre reumática se deben en su mayoría a infecciones ocasionadas por otra cepa diferente a la original, llama la atención el hecho de que, en los pocos casos de reinfecciones ocasionadas por la primera cepa, el período transcurrido entre la faringitis y la iniciación de los signos de fiebre reumática es muy similar al del primer episodio; sin duda, este fenómeno es contrario al que se esperaría, si se toma en cuenta la teoría de que la enfermedad se basa en procesos autoinmunes (19, 51).

Fiebre escarlatina y el síndrome del shock tóxico (SST)

La fiebre escarlatina es un padecimiento que afecta principalmente a los niños (ya que la mayoría de los adultos suelen adquirir inmunidad como resultado de exposiciones previas), se contagia por medio de aerosoles generados por enfermos y portadores faríngeos y se caracteriza por la aparición de fiebre y rash difuso en la piel (9).

La frecuencia de esta afección fue muy importante durante muchos años pero, durante el siglo XIX, se presentaron numerosos brotes epidémicos más severos en Inglaterra y el resto de Europa, con tasas de mortalidad especialmente elevadas que incluían el fallecimiento de familias enteras (66).

Entre 1900 y 1950, la incidencia de la fiebre escarlatina no disminuyó, aunque su gravedad se redujo considerablemente, al grado de que se estimaba que se trataba de una afección de bajo peligro y, finalmente, el descubrimiento y el empleo de la penicilina originaron su abrupta desaparición (79).

En 1978, apareció una nueva enfermedad denominada SST, la cual era ocasionada por determinadas cepas de *Staphylococcus aureus* que producían la toxina del síndrome del shock tóxico (TSST-1) y que simulaba los síntomas de la fiebre

escarlatina (fiebre, rash difuso y descamación de la piel de palmas y plantas), aunque inicialmente no había alguna razón aparente para relacionar ambos padecimientos: a diferencia de la escarlatina, que se presentaba en niños de ambos sexos y rara vez en los adultos, el SST se localizaba en mujeres de 20 a 40 años de edad (93, 119).

Eventualmente, la causa del SST se ubicó en el uso de ciertos tampones superabsorbentes que, durante la menstruación, no se cambiaban con la frecuencia requerida, por lo que los estafilococos incorporados durante la inserción o -en algunos casos- situados previamente en la vagina, encontraban las condiciones adecuadas para crecer rápidamente en la sangre menstrual atrapada y liberaban la TSST-1; a su vez, ésta se absorbía hacia la circulación y provocaba los síntomas correspondientes (93).

En ese momento se pensaba que el problema del SST se había resuelto definitivamente al haberse retirado del mercado los tampones superabsorbentes. De hecho, la frecuencia del padecimiento declinó notablemente -sin desaparecer en su totalidad-, aunque aparecieron algunos episodios de SST asociados a infecciones de heridas provocadas por *S. aureus* y, posteriormente, se detectaron otros casos originados por cirugías nasales previas: los estafilococos dorados colonizan con regularidad la mucosa nasal humana y, como consecuencia de las lesiones

quirúrgicas en la nariz, algunas cepas crecían y liberaban la TSST-1, la cual penetraba directamente al torrente circulatorio (93).

Justamente cuando el SST se prevenía con eficacia mediante las terapias de heridas y de las cirugías nasales, e inclusive, su existencia empezaba a olvidarse, aparecieron los primeros casos de otro padecimiento cuyos síntomas eran muy similares a los de aquél pero no implicaban el uso de tampones ni la participación de *Staphylococcus aureus*; el agente etiológico era *Streptococcus pyogenes*, éste provenía de infecciones cutáneas previas o de diversos tipos de heridas y su desarrollo involucraba la invasión del torrente circulatorio (41, 129).

En virtud de dicha semejanza en los signos clínicos, la nueva afección fue denominada TSLS, por *toxic shock-like syndrome*. Cabe señalar que los grados de mortalidad de esta última dentro de los hospitales alcanzaba el 30 %, cerca de 3 veces más alta que la relacionada con el SST y que, si bien lo elevado de su letalidad se asociaba a individuos inmunocomprometidos, un considerable número de casos se localizaba en individuos aparentemente saludables (41, 119, 124).

Al mismo tiempo se presentaba un incremento de casos de otra clase de infecciones invasivas por *S. pyogenes*, cuya mortalidad también era muy alta debido al rápido desarrollo de shock y de falla en múltiples sistemas orgánicos. Aparentemente, esta

patología no correspondía a la de los muy severos casos de fiebre escarlatina del siglo XIX, pero ambas evidenciaban diversas características en común, incluida la producción de la exotoxina pirogénica estreptocócica (Spe) (13, 41, 65, 104).

III. FACTORES DE PATOGENICIDAD DE *S. pyogenes*

i. Colonización de piel y garganta

Puesto que el epitelio de la faringe se encuentra protegido por la acción de la saliva, las bacterias que colonizan dicha región anatómica deben ser capaces de adherirse a las células de la mucosa; durante algún tiempo, se pensó que la principal adhesina de *S. pyogenes* era una estructura fimbrial integrada por la proteína M y el ácido lipoteicoico (LTA), sin embargo, trabajos recientes han demostrado que las cepas mutantes carentes de esa proteína también se adhieren a las células epiteliales con la misma eficacia que las cepas originales. En estricto, es posible que el LTA esté involucrado en la adherencia formando un complejo con alguna otra proteína no-M, aunque esta posibilidad aún no se ha logrado comprobar (29, 62).

Adicionalmente, otra proteína superficial de reciente descubrimiento, denominada F, aparenta mediar en la adherencia a células faríngeas, por lo que se considera que podría representar la principal adhesina estreptocócica: la proteína F se une a la fibronectina, una molécula proteica que forma parte de las células faríngeas y de muchos otros tejidos del organismo. De hecho, las mutantes a las que se eliminó el gen que codifica para la proteína F perdieron eficacia para adherirse a cultivos de células epiteliales, e inclusive, la inserción del mencionado gen a cepas no

adherentes de *Enterococcus faecalis* produjo variantes capaces de adherirse a las células faríngeas (62, 60, 69).

Tabla 2. Principales factores de virulencia detectados en *S. pyogenes* (75).

Proteínas extracelulares	
Toxinas que dañan la membrana de la célula hospedadora	Estreptolisina O
	Estreptolisina S
SuperAgs estreptocócicos	Exotoxina pirogénica (eritrogénica)
	Exotoxina mitogénica Z
	Superantígeno estreptocócico
Proteínas accesorias	Cisteín-proteinasa (exotoxina pirogénica tipo B)
	Peptidasa de C5a
	Apolipoproteinasa (factor de opacidad sérica)
	Estreptoquinasa
	Hialuronidasa
	DNAsas
Proteínas asociadas a la superficie bacteriana	
Proteína M y proteínas relacionadas con la M (de unión a diferentes proteínas plasmáticas, IgA e IgG)	
Proteínas H y K	
Proteínas de unión a la fibronectina	
Proteínas de unión a la colágena	
Proteínas de unión al plasminógeno	

Es importante señalar que en los últimos tiempos se ha observado que la proteína M podría mediar la adherencia estreptocócica a los queratinocitos (un tipo de células de la piel), por lo que actualmente se considera que esta proteína sí esta implicada en la colonización de la piel (62, 109, 130).

Por otra parte, las cepas que causan fiebre reumática suelen presentar una cápsula fina de ácido hialurónico que les confiere un aspecto mucoso a las colonias obtenidas en medios de cultivo inertes. El ácido hialurónico también es un componente común de los tejidos humanos y, consecuentemente, no es inmunogénico; en este sentido, es preciso agregar que dicho azúcar protege al microorganismo de la fagocitosis y retarda el reconocimiento del invasor por parte del sistema inmune del hospedador, aunque no resulta suficiente para que este último permanezca indefinidamente en la faringe u otros órganos, como lo demuestra el hecho de que numerosos casos de faringitis estreptocócica curan sin tratamiento alguno (13, 101).

ii. Capacidad para inducir procesos inflamatorios severos

Los síntomas de la faringoamigdalitis estreptocócica se deben principalmente a la capacidad de *S. pyogenes* para inducir una intensa respuesta inflamatoria, la cual podría explicarse con base en la participación de dos tipos de productos bacterianos: el primero incluye a las enzimas hidrolíticas tales como las hemolisinas, proteasas, DNAsas y estreptoquinasas, que contribuyen al daño tisular y, por ende, provocan inflamación; el segundo, abarca a los fragmentos del peptidoglicano y del LTA, ya que ambos disparan la activación del complemento y la liberación de citocinas (18, 53, 64, 73).

Una de las preguntas cuya respuesta aún no se ha encontrado es porqué los portadores prolongados de *S. pyogenes* no desarrollan faringitis ni sus secuelas. Evidentemente, la contestación lógica implica a la diversidad de la patogenicidad entre las diferentes cepas y a las condiciones del sistema inmunológico de los distintos individuos; sin embargo, también debe considerarse que las cepas que permanecen después de alguna patología suelen presentar menores cantidades de proteína M, como estrategia para evadir la respuesta inmune (36, 107).

iii. *S. pyogenes* versus las defensas del hospedador

Si bien se considera que la mortalidad del TSLs es mayor que la del SST, ello puede radicar en el hecho de que las cepas de *S. pyogenes* asociadas al primer padecimiento ingresan en el torrente circulatorio del hospedador en tanto que, en el SST, sólo la toxina ingresa a la sangre (125).

Lo anterior sólo refleja la gran capacidad del GAS para evadir las defensas de su hospedador, propiedad en la que destaca la participación antifagocitaria de la proteína M, anclada a la pared celular a través de su grupo carboxi-terminal, lo cual permite que el amino-terminal se proyecte hacia fuera de la bacteria (62).

Es decir, la proteína M y algunas otras proteínas superficiales cubren casi totalmente a la células estreptocóccicas más virulentas y su acción antifagocitaria reside en que se une con mayor avidéz al factor H que al B, conduciendo a la degradación (y no a la incorporación/opsonización) del C3b; a este respecto, los estudios realizados con mutantes carentes de proteína M han demostrado que éstas son más susceptibles a la fagocitosis y mucho menos virulentas que las cepas originales; por otra parte, los Acs anti-proteína M protegen de las infecciones ocasionadas por *S. pyogenes* (2, 49, 72, 122,123).

Hasta el momento, se han detectado cerca de 90 serotipos diferentes de proteína M, lo cual no sólo sugiere la posibilidad de que el microorganismo escape de la opsonización mediante la estrategia de variación antigénica sino que, además, se ha comprobado que ciertos serotipos M se relacionan más estrechamente con la mayor gravedad de los cuadros patológicos debidos a *S. pyogenes* (62, 72).

Por otra parte, la especie sintetiza una inusual proteasa que escinde a C5a, la partícula del complemento que atrae la presencia de fagocitos a las regiones anatómicas afectadas por agentes microbianos. En otras palabras, los GAS se autoprotegen de la activación del complemento reduciendo la cantidad de C5a en su radio de acción y su C5a peptidasa parece alcanzar la relevancia de la proteína M,

ya que las mutantes que no la producen también son menos virulentas que las cepas salvajes (8, 22, 70, 71, 126).

Adicionalmente, los aislamientos de los casos más peligrosos de *S. pyogenes* presentan otras moléculas de superficie conocidas como proteínas parecidas a la M (*M-like proteins*). Algunas de ellas se unen al fragmento Fc de los Acs IgG e IgA dirigidos contra cualquier antígeno, a fin de cubrir con proteínas del hospedador a toda la célula estreptocócica y, por ende, impedir que el sistema inmune los reconozca como extraños; otras, desempeñan una singular función no detectada en miembros de otros géneros: se unen a inhibidores de proteasas sintetizadas por el organismo hospedador, tales como la α_2 -macroglobulina, cuyo objetivo primario es el de proteger a los tejidos de la acción de las proteasas propias, incluidas las liberadas por los fagocitos; de esta manera, los GAS se autoprotegen de la acción de dichas proteasas (22, 38, 88, 106, 115).

iv. La exotoxina pirogénica estreptocócica (Spe)

La Spe es una toxina muy similar a la toxina del síndrome del shock tóxico (TSST-1) de *S. aureus*, e inclusive, su mecanismo de acción implica su participación como superantígeno (41, 66, 104).

En este sentido, ejerce su perjuicio formando un puente de unión entre el MHC de clase II (de las células presentadoras de antígeno) y los receptores especializados de las células T que interactúan con dicha molécula. Es decir que, cuando existe una alta concentración de ella en el organismo del hospedero, sus moléculas se unen indiscriminadamente al MHC de clase II presente en numerosos macrófagos y linfocitos B -sin haber sido procesadas en el interior de dichas células- y, secuencialmente, a gran cantidad de células T cooperadoras. La reacción generada entre las células presentadoras de antígeno y los linfocitos T es similar a la que ocurre normalmente cuando se trata de presentar Ags comunes, aunque se da de forma indiscriminada y en mucha mayor cantidad; de hecho, se produce un número excesivamente más elevado de parejas linfocito T-macrófago y linfocito T-linfocito B, por lo cual se estimula a 1 de cada 5 células T, en vez de a 1 de cada 10,000 y, consecuentemente, la concentración que se libera de IL-2 es muy lesiva, presentándose fiebre elevada, náuseas, vómito y malestar general, independientemente de que se liberan otras citocinas asociadas al estado de shock (47, 62, 74, 82, 103, 116).

Hasta ahora se han descrito 3 serotipos de la Spe: SpeA, SpeB y SpeC; pero, la mayor parte de los casos de TSLS (de *toxic shock-like syndrome*) y de otras enfermedades estreptocócicas muy invasivas se asocian a aislamientos que

sintetizan la SpeA, la cual a su vez no se detecta en las cepas causantes de padecimientos menos serios (20, 41, 44, 65, 89, 93, 102, 128).

Lo anterior sugiere que la SpeA podría ser la responsable de la TSLS; sin embargo, algunos estudios han establecido que dicha toxina no es producida por todos los aislamientos provenientes de las formas más graves de la enfermedad estreptocócica (41).

Las investigaciones tendientes a determinar el mecanismo de acción mediante el cual la TSST-1 y la Spe causan shock y la falla de múltiples sistemas orgánicos, han originado 3 hipótesis: la primera propone que ambas lo hacen tal como se ha demostrado para los LPS pertenecientes a las bacterias Gram negativas, disparando la liberación de IL-1 y TNF- α (18, 41, 63, 74, 119).

La segunda hipótesis sugiere que ambas toxinas ejercen su efecto incrementando la sensibilidad del organismo hospedador a los LPS. Es importante comentar que estos últimos siempre se encuentran en alguna concentración dentro del organismo, procedentes de la destrucción de bacterias que integran la flora habitual; en tal contexto, la inyección de Spe resulta letal en conejos comunes, pero no en lechones gnotobióticos en cuyo torrente circulatorio no se localizan LPS (66).

La tercera supone que la Spe y la TSST-1 actúa directamente sobre las células endoteliales, contribuyendo al mal funcionamiento del sistema circulatorio y al desarrollo de hipotensión; en este aspecto, la inflamación asociada a una marcada liberación de fluidos por parte de los capilares suele ser uno de los signos relacionados con la presencia de cualquiera de ambas toxinas aunque, probablemente, también podría deberse al efecto de las citocinas, de la coagulación o del complemento, sobre los vasos sanguíneos (66).

v. Fagos de *S. pyogenes*

Los fagos temperados de *Streptococcus pyogenes* resultan de particular interés, en virtud de que una parte de los principales factores de virulencia de este microorganismo, las toxinas pirogénicas, residen en sus genomas. De acuerdo con los datos obtenidos a partir del estudio de la cepa SF370, en el cromosoma estreptocócico se pueden detectar al menos 3 genomas completos de bacteriófagos, ubicados muy cercanos uno del otro, e inclusive, todos los genes que se asocian a la exotoxina pirogénica, excepto el *speB* -que no codifica para un superantígeno- se encuentran localizados en fagos o en profagos defectuosos (94, 96, 134).

La mitomicina sólo induce un fago funcional en la cepa SF370, el cual incluye al gen *speC* (96).

Las clásicas toxinas pirogénicas (eritrogénicas) *SpeA* y *SpeC* de los GAS son codificadas por el fago T12 y el fago CS112, respectivamente, que podrían utilizarse para realizar conversiones lisogénicas de cepas no toxigénicas en *S. pyogenes*. Cabe mencionar que el gen *speA* también se ha puesto de manifiesto en otros fagos del grupo A, lo que resulta en un gran significado epidemiológico, debido a que el gen *speA* predomina en los aislamientos provenientes de pacientes con shock tóxico (94, 95).

La observación de *speA* en fagos lisogénicos representa una clara prueba de la ocurrencia de la transferencia horizontal de genes; de hecho, el elevado grado de similitud entre las secuencias de *SpeA* y de las enterotoxinas B (SEB) y C1 (SEC1) de *Staphylococcus aureus*, ha conducido a establecer la sospecha de que sucedan las transferencias interespecies a través de la transducción de fagos; en apoyo a esta teoría, puede señalarse que los genes que codifican para la toxina estreptocócica se localizan precisamente en la vecindad del sitio *attP* del genoma fágico, lo que indica que el origen de dichos genes es cromosómico y que probablemente fueron extraídos de su ubicación inicial durante escisiones anómalas (78, 93, 94).

Los genes de nuevas exotoxinas descritas recientemente también se localizan en un genoma fágico críptico. A este respecto, el alto contenido de diferentes profagos y fagos defectuosos ofrece una fuente notablemente rica para la generación de nuevos fagos por recombinación homóloga en un rango de hospedadores potencialmente ampliada. Así, la polilisogenia -con la posibilidad de mezclas fenotípicas y de inducción de transferencias- puede ser considerada como uno de los principales mecanismos utilizados por los estreptococos para la transferencia intraespecie e interespecie de genes de virulencia. En este sentido, es oportuno recordar que las evidencias experimentales asociadas a la polilisogenia y su impacto potencial en la epidemiología clínica -incluida la transducción de plasmidos de resistencia- fueron publicadas desde antes del advenimiento de la genética molecular (78, 93,96).

vi. Invasión intracelular

El principal reservorio de *S. pyogenes* es la mucosa oral-nasal y, aunque como consecuencia de los climas tropicales, la entidad clínica que ocasiona con mayor frecuencia es la faringitis, la década pasada ocurrió un dramático incremento en enfermedades sistémicas en numerosas regiones del mundo (91).

El descubrimiento de que *S. pyogenes* y *S. agalactiae* pueden penetrar en altas frecuencias las células epiteliales de los mamíferos ofrece explicaciones

potenciales a los cambios registrados en cuanto a su epidemiología y su capacidad para superar las barreras primarias de defensa del humano (31).

Los GAS han desarrollado una gran variedad de componentes de superficie y factores extracelulares que alteran la respuesta inflamatoria y dificultan su erradicación por parte del hospedero; sus más de 90 serotipos emplean diversas estrategias para colonizar los tejidos humanos y evitar los mecanismos de resistencia a la infección (22).

La invasión intracelular por parte de estos microorganismos depende de al menos 2 moléculas bacterianas de superficie: las proteínas M y las proteínas afines a la fibronectina (Fn); las primeras desempeñan varios papeles en su patogenicidad, destacando la resistencia a la fagocitosis, la adherencia y la invasión intracelular, en tanto que, las segundas, también podrían fungir como adhesinas e invasinas, si bien esto último no se ha logrado comprobar plenamente (28, 48, 59, 60, 68).

El impacto de la invasión intracelular en las infecciones por *S. pyogenes*.

Numerosos casos geográficos y temporales de sepsis y choque tóxico han sido publicados recientemente, implicando a algunos serotipos de *S. pyogenes*. De

hecho, una subclona M1, conocida como M1 inv+, ha resultado la reportada con mayor frecuencia (37, 67, 105, 119, 121).

En forma muy sorprendente, se notificaron constantemente devastadoras infecciones de tejidos blandos que afectaban a personas con y sin traumatismos o heridas previos que pudieran iniciar la diseminación sistémica del agente causal (7, 37).

Cleary y cols fueron los primeros autores que consideraron la posibilidad de que la invasión intracelular de las mucosas proporcionara una ventana para que los estreptococos alcanzaran tejidos más profundos, e inclusive, el torrente circulatorio, al descubrir que las cepas M1 inv+ invadían las células epiteliales A549 con una frecuencia significativamente más elevada que otras clonas estreptocócicas M1 (23, 83).

Al parecer, la diferencia entre la subclona de alta invasividad y las restantes residía en un fragmento de DNA de 70 kb perteneciente a 2 distintos profagos, uno de los cuales, el T14, codifica para la toxina SpeA (23).

La detección de los 2 profagos abrió la posibilidad de que uno de ellos codificara para algún factor que promoviera la internalización de alta frecuencia en las células epiteliales.

Cabe señalar que Schragger y cols descartaron que hubiera una relación entre la invasión intracelular y la enfermedad sistémica; su cuestionamiento derivaba de 2 evidencias:

- a) La cepa M18 que presentaba una gran cápsula de ácido hialurónico era ineficientemente englobada por queratinocitos, mientras que su respectiva mutante no capsulada invadía dichas células con una frecuencia 2 a 4 veces mayor que la cepa original (101, 120).

- b) En un modelo murino para infección sistémica, al cual inyectaban los estreptococos por vía subcutánea, la cepa original resultaba más virulenta que su mutante no capsulada (121).

Considerando las observaciones de Schragger, Cleary y cols llegaron a una conclusión diferente respecto al impacto de la cápsula sobre la invasión de células epiteliales: estos últimos encontraron que las variantes no capsuladas y deficientes en proteína M1 de la cepa M1 inv+ penetraban muy pobremente en las A549, lo que sugería que la capacidad de internalización residía en la proteína M y que las cápsulas¹ grandes sólo retrasaban el evento, al impedir la unión directa entre la bacteria y la fibronectina (u otras proteínas de la matriz extracelular), (101, 120, 121).

En resumen, la capacidad de invasión radica en la proteína M y la cápsula no mejora la invasión ni representa un impedimento absoluto para la internalización (8).

Las amígdalas como reservorios de *S. pyogenes*.

Si bien aún es incierta la relación entre la alta frecuencia de invasión intracelular y la enfermedad sistémica estreptocócica, el estadio intracelular puede incrementar la capacidad de *S. pyogenes* para diseminarse entre las poblaciones humanas (33).

Al comparar las cepas provenientes de los portadores, de las aisladas a partir de faringitis (no complicada) y septicemia, se encontró que las primeras se internalizaban con alta frecuencia en las células HEp-2 (107).

Los cultivos M1 inv⁺ suelen incrementar su invasividad intracelular cuando se les inocula de manera seriada en células epiteliales humanas *in vitro*, ya que su repetido paso por los medios intracelular y extracelular va seleccionando clonas cada vez más invasivas (33).

¹ Las cepas M18 presentan cápsulas notablemente más grandes que las de la clona M1 inv⁺.

En este sentido, se ha detectado que 30 a 40 % de los niños continúan liberando estreptococos después de haber recibido tratamiento con penicilina y que, por otra parte, según estudios *in vitro*, los estreptococos intracelulares pueden resistir al menos 100 µg/mL de penicilina (36).

De acuerdo con lo anterior, el tratamiento con penicilina estaría seleccionando cepas con alta frecuencia de invasión y, con ello, ocurriría una cantidad mayor de terapéuticas fallidas y se incrementarían los reservorios humanos que diseminan el microorganismo hacia otros individuos de la población. Evidentemente, al crecer el número de personas infectadas también aumenta la incidencia de casos de enfermedades sistémicas (33).

Adicionalmente, las cepas o serotipos menos capaces de procurarse nichos libres de antibióticos, resultarán poco asociados a padecimientos severos.

El estudio de un brote en Minnesota mostró que el 40 % de niños escolares de las comunidades cercanas eran portadores de una clona serotipo M3 que provocaba enfermedad sistémica en adultos; los investigadores implicados sugirieron que los portadores infantiles habían fungido como focos infecciosos de la cepa de *S. pyogenes* que les provocó el SST a los adultos involucrados (25, 26, 33).

Sin embargo, la evidencia más directa de que las cepas intracelulares representan una fuente importante de diseminación y la causa de amigdalitis recurrentes, reside en estudios microscópicos de amígdalas extraídas quirúrgicamente. Los autores encontraron que 13 de las 14 amígdalas provenientes de niños afectados por amigdalitis recurrente, albergaban estreptococos intracelulares y que, además, numerosos microorganismos (*S. pyogenes*) también se encontraban dentro de macrófagos. A diferencia de lo anterior, las amígdalas extraídas por razones ajenas a procesos infecciosos no mostraban estreptococos, sino hasta que aquéllas fueron cultivadas *in vitro* e inoculadas posteriormente con GAS (33).

Más tarde, numerosos trabajos han vuelto a confirmar la capacidad de la cepa M1 inv+ para invadir eficazmente las células epiteliales queratinizadas de las amígdalas, demostrando que el englobamiento de los estreptococos por parte de dichas células depende de la proteína M bacteriana y de receptores tales como la fibronectina y la laminina en los tejidos del hospedero (37).

El proceso de invasión de cultivos celulares de mamíferos por *S. pyogenes*, resulta similar al ampliamente demostrado en el género *Yersinia*, que puede implicar uno de 3 mecanismos, el más relevante de los cuales es mediado por la proteína bacteriana InvA; ésta presenta una gran afinidad de unión a múltiples integrinas $\beta 1$, glicoproteínas transmembranales heterodiméricas embebidas en las proteínas (por

ejemplo: fibronectina –Fn-, laminina –Ln- y fibrinógeno) que conforman la matriz extracelular de los tejidos de mamíferos (31, 69).

La reacción de las integrinas $\beta 1$ con InvA genera la activación de señales de transducción en la célula hospedera y el rearrreglo de los componentes citoesqueléticos de esta última; el englobamiento bacteriano ocurre vía un mecanismo similar a un zipper en donde los rearrreglos citoesqueléticos ingresan al microorganismo y la membrana citoplásmica se cierra alrededor de él (32, 33, 42, 114).

InvA es el prototipo de una serie de adhesinas denominadas “invasinas”, moléculas proteicas que generalmente se expresan sobre la superficie bacteriana y reconocen, directa o indirectamente, a sus receptores específicos situados en la célula hospedera; por lo regular, los factores que permiten a una adhesina funcionar como invasina, incluyen a la alta afinidad de la invasina hacia su receptor, la densidad del receptor y la función biológica de este último (27, 33).

Si bien los estudios sobre internalización estreptocócica no se encuentran tan avanzados como los que se han efectuado en *Yersinia*, los resultados obtenidos indican que *S. pyogenes* ha desarrollado múltiples mecanismos para invadir una gran diversidad de células de mamíferos; de hecho, varias invasinas

estreptocóccicas se han detectado, incluyendo a 2 proteínas afines a la Fn y a 3 proteínas M (consultar la tabla 4), (28, 29).

Las proteínas de alta afinidad hacia Fn e invasión celular.

Las moléculas proteicas estreptocóccicas Sfb1 y F1 (PrtFI) se encuentran estrechamente relacionadas entre sí y manifiestan una alta afinidad por la Fn; se considera que aproximadamente el 70 % de las cepas de *S. pyogenes* poseen el gen que codifica para su síntesis -aunque en muchas de ellas éste no se expresa bajo condiciones de laboratorio- y que la unión de la PrtFI a la Fn promueve la adherencia del microorganismo al tejido dérmico y a los cultivos celulares (27, 28, 54, 60, 76).

Tabla 4. Proteínas de *S. pyogenes* implicadas en la invasión intracelular de cultivos celulares de mamíferos.

Invasina	Línea celular ^a
Sfb1	HEp-2
F1	HelA, A549, HEp-2, HTE ^b
M1	HEp-2
M3	HEp-2, HaCaT
M6	HEp-2, HaCaT, células L
M18	células L

Lo anterior condujo a que Osaka y cols propusieran que la Fn estimulaba la adhesión, participando como un adaptador o puente molecular que conecta a los estreptococos con la célula hospedera, hipótesis ratificada por varios autores que establecieron el papel de las SfbI/PrtFI como promotoras de la invasión intracelular por dicho mecanismo (33, 59, 97,110).

Molinari y cols demostraron que SfbI podía mediar la invasión de células HEp-2, ya que la internalización del microorganismo era impedida por Acs anti-SfbI, e inclusive, por la preincubación de las células “blanco” con SfbI purificado; además, esferas de látex recubiertas con SfbI se adherían eficazmente a las HEp-2 y eran internalizadas por éstas, lo que comprobaba la suficiencia de la interacción entre SfbI y las células hospederas para que ocurriera el fenómeno. Finalmente, la unión de la SfbI con la Fn era indispensable, ya que la adhesión primaria no se presentaba cuando la primera carecía del péptido en el que reside la capacidad de asociación a Fn (33, 54, 57, 59, 98, 99).

Por su parte, Jadoun y cols reportaron que la Fn exógena podía estimular la invasión de las HEp-2 por parte de las cepas que expresaban PrtFI y Ozeri publicó que la invasión de células HeLa por bacterias PrtFI⁺ dependía de la adición de suero o de Fn purificada; en ambos trabajos se había logrado inhibir la invasión,

adicionando previamente Acs anti-Fn, o bien, preincubando el cultivo celular con péptidos purificados PrtFI (33, 69).

Análogamente, se observó que los Acs anti-integrina $\beta 1$ impedían la invasión de células HeLa mediada por PrtFI-Fn, lo que ratificaba la posibilidad de que las integrinas estaban involucradas en la internalización (113).

En resumen, las observaciones anteriores resultaron consistentes con la teoría de que la Fn funciona como un puente molecular entre las SfbI/PrtFI y las células hospederas, así como con la propuesta de que las integrinas $\beta 1$ participan en la internalización de *S. pyogenes*, evento que también se ha demostrado —quizá más ampliamente— para otras bacterias invasivas tales como *Yersinia* (32, 33, 81).

Las proteínas M como invasinas. Mientras los estudios anteriores demostraban el papel de las SfbI/PrtFI como invasinas, los reportes de otros laboratorios adicionaban otras moléculas al proceso de internalización. Así, se comprobó que las cepas M1 carentes del gen que codifica para SfbI/PrtFI también evidenciaban gran eficacia para invadir las células epiteliales humanas (62).

De hecho, la invasión de la cepa M1 inv⁺ de *S. pyogenes* 90-226 depende de la expresión de la proteína M, como lo demuestra el hallazgo de que la inactivación

del gen *emml* –que codifica para dicha proteína- disminuye casi 50 veces la internalización en células HeLa, A549 y HEp-2. Además, la M1 es requerida para la invasión de células epiteliales de las amígdalas humanas -aunque no para la de macrófagos murinos de la línea celular J774A.1-, e inclusive, las esferas de látex recubiertas con M1 son eficazmente ingeridas por las células HeLa (29, 31, 62).

Sin duda, los datos anteriores sustentan que la invasión de las células epiteliales por parte de la cepa 90-226 es regulada en buena parte por la proteína M1; sin embargo, es preciso subrayar que la expresión de ésta parece no ser suficiente, ya que el proceso también requiere de suero exógeno, Fn sérica o Ln (31).

La proteína M1 aparenta ser la de mayor afinidad por la Fn en la cepa mencionada, ya que la inactivación del gen *emml* reduce la adhesión en un 88 %, e inclusive, la M1 purificada se une *in vitro* a la Fn. En este sentido, es importante destacar que, probablemente, no todas las proteínas M sean capaces de unirse a la Fn, puesto que en sólo 2 serotipos, M1 y M3, se ha logrado reproducir el fenómeno; no obstante, también debe considerarse que ello podría deberse a las condiciones y el material empleados durante la experimentación. De hecho, varios investigadores han reportado muy baja invasión (0.1 a 1 %) por parte de los aislamientos M1, lo que otros autores han intentado explicar argumentando concentraciones erróneas o diferente calidad en cuanto a las cepas (ligandos) y receptores utilizados en dichos

estudios. Por ejemplo, Jadoun y cols reportaron una internalización ineficaz en células HEp-2 por parte de la cepa AP1 M1*; pero, su trabajo se desarrolló en condiciones carentes de suero, lo cual no debe ocurrir, según otros autores que han mostrado la eficaz invasión de células A549 en presencia de Fn por parte de la misma cepa. Asimismo, Greco y cols publicaron que la Fn comercialmente adquirida no promovía la internalización del serotipo M1, pero tampoco fueron capaces de reproducir el proceso con la cepa 90-226, cuya invasividad había resultado ampliamente probada. Finalmente, Penta y Cleary reportaron que, aún en presencia de suero, los aislamientos M1 pueden exhibir una gran variación respecto a su eficacia para invadir, debido posiblemente a sus diferencias en la síntesis de M1 a nivel transcripcional –la cual puede variar entre una y otra cepa, e inclusive, entre los diversos cultivos de una misma cepa-; esto último es congruente con las afirmaciones de Ozeri y cols, en el sentido de que la cantidad de “ligandos bacterianos” afines a las integrinas $\beta 1$ de las células hospederas puede influir sobre la eficacia de la invasión (11, 22, 24, 31, 33, 48, 69, 112).

En presencia de Fn, la internalización de *Streptococcus* M1 parece depender de la interacción entre M1, Fn y la integrina $\alpha 5\beta 1$, ya que los Acs monoclonales que bloquean la unión entre las 2 últimas terminan impidiendo el proceso en las células A549, HeLa y tonsilares humanas, lo que también refuerza el papel de la Fn como puente de unión entre la bacteria y la célula “blanco” (29).

Recientemente, las proteínas M3, M6 y M18 han resultado propuestas como mediadoras de invasión estreptocócica (62):

Jadoun y cols estudiaron la adherencia e invasión relacionadas con una cepa de GAS que expresaba las proteínas PrtFI y M6, encontrando que si bien la primera representaba su principal adhesina/invasina, la escisión del gen *emm6.1* disminuía notablemente ambos eventos. Por su lado, Fluckiger reforzó el papel de M6 en la invasión, mostrando que las IgG de conejo anti-M6 impedían la internalización del microorganismo en las células epiteliales faríngeas (69).

En otro orden de ideas, también se ha determinado que la expresión de M18 promueve la invasión de fibroblastos L murinos, aunque no de las células HaCaT y HEp-2; en contraste, la expresión de M3 estimula la internalización –dependiente de Fn- en las 2 últimas, pero no en los fibroblastos L. Estos hallazgos proponen que: **a)** las proteínas M de diferentes serotipos frecuentemente, reconocen a distintos receptores superficiales de las células hospederas; y **b)** si bien varios serotipos M estimulan la invasión intracelular por parte de *S. pyogenes*, no existe un mecanismo único que resulte común a todos ellos (33).

Diversos estudios han demostrado que la adherencia de los estreptococos a las células hospederas no es necesariamente suficiente para que ocurra la

internalización; por ejemplo, la proteína M18 promueve la adhesión a las células HEp-2 y HaCaT, pero las bacterias adheridas son internalizadas ineficazmente; análogamente, las mutantes M⁻ de la cepa 90-226 se adhieren a células cultivadas, pero menos del 1 % de los microorganismos ingresa al medio intracelular (33).

En este último caso, las observaciones sugieren que la cepa 90-226 posee otra(s) adhesina(s) y que la proteína M sólo actúa como invasina, posiblemente después de que aquélla(s) ha(n) realizado sus funciones primarias: estimular la adherencia, estabilizar las interacciones bacteria-célula hospedera y promover el contacto entre el epítipo M, los puentes proteicos (Fn, Ln, etc.) y las integrinas. En tal contexto, el proceso de internalización requeriría de al menos 2 tipos de receptores: el(los) de la(s) adhesina(s) aún desconocida(s) y los de la invasina M (69).

A este último respecto, cabe señalar que: a) un modelo similar ya se ha determinado para el proceso de invasión –dependiente de Fn- protagonizado por *Neisseria gonorrhoeae*; y b) la internalización de esferas de látex recubiertas con M1 por parte de células HeLa, ha demostrado que otras adhesinas podrían resultar innecesarias (33).

La capacidad de bacterias M⁺ y M⁻ para adherirse a las células hospederas es similar en ausencia de “moléculas puente” pero, en presencia de alguna de éstas

(suero, Fn o Ln), la de las cepas M⁺ resulta 2 veces mayor (se incrementa) que la de M⁻ (la cual no se ve afectada). Estos hallazgos sugieren que la M1 funciona como una adhesina dependiente de factores inherentes al hospedero, la cual promueve la interacción bacteriana con las integrinas, y son congruentes con la teoría que establece que los diferentes “puentes moleculares” estimulan la unión bacteriana a distintos receptores: la Fn promueve la interacción del microorganismo con la integrina $\alpha 5 \beta 1$, mientras que la Ln lo hace con otra integrina $\beta 1$ (61, 68).

Una vez que las invasinas han reaccionado con las integrinas, diversos eventos citoesqueléticos en la célula hospedera “absorben” a una cierta variedad de bacterias patógenas, generalmente, a través de un mecanismo parecido a los zipper, mediado por interacciones ocurridas entre invasinas, ligandos y receptores. Dichas interacciones conducen a la formación de pseudópodos que implican la extensión de los filamentos de actina desde debajo de la membrana de la célula hospedera (33).

La microscopía electrónica ha revelado que las bacterias adherentes M1⁺ frecuentemente entran en estrecho contacto con las microvellosidades celulares, lo que sugiere que éste representa el primer paso de la internalización. Cabe mencionar que las microvellosidades suelen extenderse a través de la superficie bacteriana, aparentando entrapar a los estreptococos y transformarse en

estructuras similares a los pseudópodos, aunque éstos podrían emitirse independientemente (83).

Contrario a los estreptococos M1⁺, las cepas M1⁻ rara vez manifiestan alguna interacción con las microvellosidades y no se les ha observado haciendo contacto con estructuras similares a pseudópodos (33).

La polimerización de la actina resulta esencial para ingresar a los estreptococos, como lo demuestra el hecho de que la invasión es bloqueada por la citocalasina D - un inhibidor de la polimerización de la actina (83).

La microscopía inmunofluorescente ha confirmado que las vacuolas contienen estreptococos rodeados por actina polimerizada, la cual se asocia temporalmente a la membrana fagosómica, ya que desaparece poco tiempo después del ingreso bacteriano. Es importante subrayar que si bien *Listeria* y *Shigella* escapan de los fagosomas conservando “colas” de actina que les permiten diseminarse hacia las células hospederas vecinas, la microscopía inmunofluorescente no ha revelado que los estreptococos conserven estructuras similares entre las 7 h subsecuentes a su internalización (98).

Por otra parte, las transmisiones de microscopía electrónica también han mostrado estreptococos dentro de las vacuolas de las células hospederas, pero el último destino de la internalización aún es sujeto de controversia. Los resultados de diversos estudios indican que el desarrollo intracelular del microorganismo no es comprobable y que, inclusive, las líneas celulares infectadas eventualmente aparecen libres de bacterias; de hecho, se han publicado micrografías electrónicas tomadas 8 h después de la infección, que muestran estreptococos degradados dentro de los fagolisosomas. Sin embargo, Österlund y Engstrand reportaron que *S. pyogenes* permanece viable dentro de células HEP-2 durante más de 7 días y Cue encontró que las cepas M1⁺ pueden ser recuperados por varios días, a partir de células infectadas expuestas a antibióticos, lo que sugiere que los estreptococos son capaces de sobrevivir dentro de las células epiteliales durante lapsos prolongados (83, 98, 111).

Por otra parte, ciertas evidencias microscópicas proponen que los estreptococos cuentan con una capacidad limitada para escapar del fagolisosoma y reproducirse en el citoplasma celular. Sin embargo, una imagen tridimensional construida a partir de varias secciones de microscopía electrónica confocal, mostró claramente una cadena estreptocócica que se había extendido a través de una célula HeLa, comprobando el crecimiento intracelular del microorganismo (111).

Cabe señalar que *Salmonella sp* permanece dentro de las vacuolas y es capaz de desarrollar en su interior después de un cierto período *lag*; inclusive, ciertas vacuolas implicadas no se fusionan a lisosomas y, en su lugar, continúan una vía francamente secretoria. A este respecto, algunos autores sugieren que los estreptococos encerrados en vacuolas de este tipo podrían atravesar la membrana celular y diseminarse hacia el interior de las células vecinas, sin entrar en contacto con el medio extracelular, sino hasta la eventual destrucción de alguna de ellas; ello sería congruente con el hallazgo de que el microorganismo puede desarrollar in vitro después de haber sido recuperado a partir de las células hospederas expuestas a los antibióticos. Evidentemente, los mecanismos asociados al traslado de los estreptococos intrafagosómicos hacia la membrana celular aún se encuentra pendiente de ser estudiado (83).

vii. Acs de reacción cruzada

Ciertos componentes de los GAS son semejantes a algunas sustancias del hospedero, lo que ha motivado el origen del término “imitación molecular” o “mimetismo molecular”, cuyo significado llega a incluir la posibilidad de que ocurran reacciones inmunológicas cruzadas: los Acs (Acs) y linfocitos T inducidos por los primeros reconocen a las segundas, o viceversa. (22)

En general, el mimetismo molecular es de las siguientes clases:

- Secuencias de aminoácidos compartidas por dos o más estructuras diferentes (34).
- Moléculas similares α -helicoidales tales como la proteína estreptocócica M y proteínas hospederas tales como miosina, queratina, tropomiosina, vimentina y laminina, que comparten regiones 40 % idénticas (35).
- Moléculas diversas tales como el DNA y las proteínas, o bien, péptidos y carbohidratos, entre las cuales llegan a presentarse reacciones inmunológicas cruzadas (35).

Sin lugar a dudas, los trabajos sobre detección de los Ags de reactividad cruzada de *S. pyogenes* han contribuido notablemente al avance del conocimiento de la imitación molecular y el tipo de Acs involucrados; a éstos se les clasifica como poli-reactivos o “de reacción cruzada”, para denotar que reconocen múltiples epítomos (16, 108).

Los Ags (Ags) y Acs (Acs) de reacción cruzada fueron descritos por primera vez para explicar el origen de la fiebre reumática; las principales observaciones que

sustentaron inicialmente esa teoría (hoy en día aceptada plenamente), fueron las siguientes:

- Los Acs dirigidos contra los GAS también reconocían los tejidos del corazón y el músculo esquelético humano (40).
- Los Acs anti-GAS del suero de enfermos con fiebre reumática eran adsorbidos con extractos de corazón humano, e igualmente, los anti-corazón humano eran adsorbidos con membranas y paredes celulares estreptocóccicas (40).
- Los sueros anti-pared celular de los GAS preparados en conejo reaccionaban con el tejido cardíaco humano y, en contraparte, los sueros anti-corazón humano (obtenidos en ese mismo modelo animal) reconocían a los GAS (132).
- En la fiebre reumática, los Acs anti-corazón persistían en los pacientes que experimentaban recurrencias reumáticas, aparentando una correlación directa entre los niveles de los primeros y las recaídas. La declinación de dichos Acs ocurría dentro de los 5 años posteriores al primer ataque.

Tomando como base los trabajos anteriores, la comunidad científica se dio a la tarea de intentar determinar el Ag estreptocócico responsable de la patología. Kaplan y Suchy propusieron por vez primera a la proteína M de la pared celular, pero los reportes posteriores restaron atención a sus afirmaciones; en tal sentido, destacaron las siguientes observaciones:

- Zebriskie y Freimer señalaron que el Ag de reacción cruzada se localizaba en la membrana estreptocócica (43).
- Beachey y Stollerman, así como Widdowson y cols reportaron, respectivamente, que el Ag correspondiente era una proteína similar a la M –no tipo específica- y a una proteína asociada a la M (127).
- En 1977, van de Rijn y cols demostraron que unos péptidos purificados de la membrana de los GAS reaccionaban con los Acs anti-corazón de los enfermos (131).

Es decir, en conjunto, dichos hallazgos ubicaban a el(los) Ag(s) buscado(s), tanto en la membrana como en la pared celular estreptocócica, e inclusive, sugerían como posibilidad al carbohidrato C del grupo A (CHO C A), lo que promovió los trabajos mencionados a continuación (61):

- Goldstein y cols mostraron que las glicoproteínas de las válvulas cardíacas contenían al determinante N-acetilglucosamina responsable de la poli-reactividad (127).
- Uding y Ayoub comprobaron la persistencia de los Acs anti-CHO C A en los enfermos. (61)
- En Rusia, Lyampert también publicó estudios sugerentes de que el CHO C A inducía respuestas contra los tejidos humanos (61).
- McCarty propuso que una porción de la N-acetilglucosamina cruzaba antigénicamente con el CHO C A y con los tejidos humanos (61).
- Algunas observaciones sugirieron que el ácido hialurónico capsular del microorganismo también inducía respuestas contra las articulaciones humanas (4, 56).
- La administración de un complejo peptidoglicano-CHO C A inducía carditis y artritis en ratas.

En resumen, los trabajos realizados entre 1960 y 1980 establecieron claramente que los procesos autoinmunes se debían a los GAS, pero dejaron varias dudas sobre los componentes estreptocócicos que actuaban como los inmunógenos implicados.

Hallazgos realizados a partir del uso de Acs monoclonales de reacción cruzada.

Los principales Acs monoclonales que reaccionaban con los GAS y los tejidos humanos se obtuvieron a partir de ratones inmunizados; en lo general, puede comentarse que una parte de los animales involucrados se inoculaba con componentes de la membrana bacteriana; la segunda, con pared celular microbiana y, la tercera, con fragmentos de tejidos de individuos con fiebre reumática (87).

En 1985, Krisher y Cunningham identificaron a la miosina como uno de los Ags hospederos que aportaba el vínculo entre los estreptococos y el corazón (34, 35, 118).

En 1987, se demostró que la miosina cardíaca podía inducir miocarditis en ratones genéticamente susceptibles y que aquella actuaba como uno de los principales tejidos “blanco” de los Acs monoclonales (87).

Posteriormente, se comprobó que otros Ags del hospedero reconocidos por los Acs monoclonales anti-GAS, tanto de origen murino como humano, eran las siguientes: tropomiosina, queratina, vimentina, laminina y N-acetil- β -D-glucosamina (esta última, el epítipo inmunodominante del CHO C A); de esta manera, se concluyó que las sustancias anteriores podrían resultar determinantes en las manifestaciones clínicas de la fiebre reumática (118).

Los Acs monoclonales obtenidos se han dividido en tres categorías, tomando como base su reactividad cruzada con: a) miosina y otras matrices proteicas que presentan estructura α -helicoidal; b) DNA; y c) N-acetilglucosamina. Cabe destacar que dichos tres grupos fueron establecidos con Acs monoclonales murinos, dado que los producidos en humanos reaccionan predominantemente con el epítipo N-acetilglucosamina o con la miosina y las moléculas proteicas relacionadas con ella; este dato no es sorprendente, tomando en cuenta que los individuos con fiebre reumática no presentan Acs séricos antinucleares durante el curso del padecimiento. De hecho, los elevados niveles de Acs poli-reactivos anti-miosina encontrados en el suero de enfermos con fiebre reumática aguda (FRA) y en los animales inmunizados con membranas y paredes estreptocócicas, explican la indistinta reactividad de dichos Acs con el miocardio y otros tejidos del humano (35, 117).

Aunque el papel de los Acs de reactividad cruzada aún no se ha logrado establecer claramente en la enfermedad, sí se ha observado que ciertos Acs monoclonales de origen murino reconocen a la laminina como un “blanco” potencial situado tanto en base de la membrana que rodea al miocardio como en la superficie endotelial de las válvulas cardíacas. En tal contexto, los Acs de reacción cruzada podrían ser atrapados por la matriz extracelular e inducir el proceso inflamatorio en esos tejidos del hospedero (61).

Finalmente, se comprobó que los Acs monoclonales anti-miosina manifiestan reacciones cruzadas con Ags estreptocócicos ubicados en la membrana y la pared celular de los GAS, entre los cuales destacan las siguientes tres proteínas: la M tipo específica; una de 60 kDa ubicada en la membrana celular; y otra de 67 kDa, similar estructuralmente al complejo principal de histocompatibilidad de la clase II (MHC II). Evidentemente, la conclusión anterior terminó dando la razón a Kaplan y Zebriskie, aunque sus propuestas respectivas parecieron contradictorias en su momento pero, sobre todo, establecieron que los Acs de reacción cruzada reconocen a más de un Ag de los GAS; de hecho, más recientemente, las observaciones de Goldstein en cuanto a la N-acetilglucosamina –el epítipo inmunodominante del CHO C A-, también recibieron su crédito, dado que muchos otros autores han continuado demostrando la reactividad cruzada entre ésta, la miosina cardíaca humana y la proteína M (35).

Por tales razones, en la actualidad se reconocen 4 epítipos de los GAS que generan la fiebre reumática: las proteínas de 60 y 67 kDa, la M y la N-acetil-β-D-glucosaminina asociada al CHO C A (35).

Las proteínas M y la fiebre reumática

Los investigadores de las proteínas M han proporcionado más información sobre la estructura primaria de la molécula, ratificando las similitudes entre ésta y las abundantes matrices proteicas de los tejidos humanos: miosina, tropomiosina, desmina, viomentina y queratina. Manjula y cols demostraron que buena parte de dichas moléculas comparten la periodicidad de un residuo de 7 aminoácidos. Estudios posteriores demostraron que Acs monoclonales anti-miosina también reaccionaban con péptidos presentes en la proteína M5; otros trabajos han aclarado la observación anterior: el suero de diversos enfermos reconoce al residuo 184 a 188 (glicina-lisina-serina-lisina-glicina) de la propia M5 y, a su vez, la inoculación de dicho residuo en ratones, induce Acs capaces de reaccionar con la miosina (34, 46, 92, 127).

De la misma manera, se ha podido comprobar que el residuo 164 a 197 de M5 induce Acs que reconocen la membrana de los tejidos cardiacos y el 84 a 116 hace lo propio, e inclusive, reacciona con Acs séricos anti-miosina (40).

Por su parte, Kraus y cols identificaron un epítipo de viomentina compartido por la proteína estreptocócica M12, así como a otra secuencia de M5 (134 a 184) con

reactividad cruzada respecto a un epítopo de tejido cerebral humano y a otro (1 a 24) de M19 (80).

Estudios posteriores mostraron un 80 % de similitud entre el péptido NT4 de M5 y la miosina cardiaca humana, subrayando que la secuencia involucrada se encuentra repetida 4 veces dentro de la estructura proteica bacteriana, en tanto que sólo aparece una única ocasión en la miosina; a este respecto, existe la posibilidad de que las regiones repetidas en M5 resulten importantes para romper la tolerancia del hospedero susceptible hacia el autoantígeno y le provoquen el proceso autoinmune (3).

En otro orden de ideas, se ha detectado que las proteínas estreptocócicas M no sólo mimetizan epítomos del humano sino, además, Acs “fuertes” presentes en virus y otras bacterias, a los cuales se les ha denominado “proteínas de choque al calor (Hsp, de *heat shock proteins*) 65”. A este respecto, las reacciones inmunológicas cruzadas que tienen lugar en el hospedero podrían resultar importantes para que éste sobreviviera a ciertas patologías ya que, al reconocer a más de un agente infeccioso, representarían una primera línea de defensa contra el segundo microorganismo; por ejemplo, ciertas regiones de la proteína M mimetizan a otras de la cápside del virus *Coxsackie* y numerosos enterovirus, por lo que los Acs

inducidos por las primeras neutralizarían a estos últimos (independientemente de que también causarían lesiones cardíacas al hospedero) (43, 87).

Fenómenos como el anterior adquieren aún más interés, cuando se toma en cuenta lo siguiente:

- El virus *Coxsackie* también ocasiona miocarditis autoinmune en hospederos susceptibles.
- Los Ags Hsp 65 podrían participar en el desarrollo de artritis y diabetes.
- La reactividad cruzada entre la proteína estreptocócica M y la Hsp 65 parece generar en secuelas artríticas.
- Los epítomos compartidos entre diferentes agentes patógenos pueden romper la tolerancia a moléculas crípticas del hospedero e inducir el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Las proteínas M y las células T de reacción cruzada

Investigaciones recientes han mostrado que, en los pacientes con FRA, las proteínas M también estimulan respuestas de los linfocitos T; por ejemplo, la PepM (de *pepsin extracted M protein fragment*) ha sido reportada como un “superantígeno” que activa a las células T de los subgrupos V β 2, V β 4 y V β 8. Evidentemente, aún se requiere de más estudios para comprobar el fenómeno, por lo que varios autores se encuentran realizando los estudios correspondientes, enfocándose en M5, ya que se trata del epítipo asociado con mayor frecuencia a brotes de fiebre reumática (1, 5, 9).

Por lo pronto, se ha comprobado que una región de M5, localizada en los residuos 157 a 197, presenta una gran homología secuencial con otros epítipos reconocidos como superAgs. Además, recientemente Guilherme y cols aislaron células T poli-reactivas, a partir de músculo, atrio izquierdo y válvula mitral, de pacientes con fiebre reumática asociada a *S. pyogenes* M5. Dichas células T respondían a diversos péptidos de M5 y a las proteínas de los extractos de tejidos cardíacos (3).

Finalmente, se ha observado que los péptidos NT4 y NT5 de M5 provocan infiltrados inflamatorios en el miocardio de ratones inoculados. La evidencia colectiva sobre linfocitos T de reacción cruzada, propone que las secuencias de

aminoácidos compartidas por M5 y la miosina cardiaca pueden romper la tolerancia y promover enfermedad cardiaca inflamatoria asociada a células T, tanto en animales como en el humano (3).

Las proteínas M y la glomerulonefritis aguda postestreptocócica

Kefalides y cols mostraron que el suero de pacientes con glomerulonefritis aguda contenía Acs dirigidos contra laminina, colágena y otras moléculas encontradas en la membrana basal del glomerulo. Los riñones afectados contenían Acs estreptocócicos, inmunoglobulinas y complemento (C') (77, 135).

Por su parte, Lange y cols sugirieron que los Acs de la membrana basal glomerular compartían epítomos con la proteína estreptocócica M12, y otros autores reportaron reactividad inmunológica cruzada entre los glomérulos y los GAS (91).

Kraus y Beachey descubrieron un epítomo autoinme renal: isoleucina-arginina-leucina-arginina, también presente en la proteína M. La evidencia sugería que ciertos serotipos M de *S. pyogenes* generaban nefritis y que, en una segunda etapa, el mimetismo molecular entre los glomerulos y la proteína M podría representar el mecanismo mediante el cual -durante la infección- se producían los Acs antiglomerulares (92).

A partir de modelos animales a los que se había inducido nefritis con estreptococos nefritogénicos M12, se eluyeron Acs antiglomerulares de los riñones afectados y se comprobó que dichos Acs reaccionaban con la proteína estreptocócica M12. De la misma manera, se obtuvieron Acs monoclonales antiglomerulares que reconocían a la M12 (5).

En resumen, los estudios anteriores sustentan que mecanismos de mediación inmunológica provocan la glomerulonefritis aguda; la nefritis podría ser el resultado de la acumulación de inmunoglobulinas y C', por influencia del mimetismo existente entre los Acs estreptocócicos y renales (4, 30, 133, 135).

viii. Regulación de los genes bacterianos de virulencia

La expresión de la proteína M, de la C5a peptidasa y de algunas de las proteínas clasificadas como "similares a la M", parece estar regulada a nivel transcripcional y ocurre en respuesta a los niveles de CO₂ que imperan en el ambiente dentro del que crece el microorganismo. Así, a mayores concentraciones de dicho gas, se incrementa la síntesis de esas moléculas proteicas; de hecho, un gen regulatorio, denominado *mry*, ha podido ser localizado y codifica para un activador transcripcional que, aparentemente, forma parte de un sistema de dos componentes, del cual la molécula que funge como sensora aún no se ha logrado identificar (14, 17, 22, 58, 84).

En los estreptococos del grupo A, diversos factores de virulencia son controlados de manera coordinada por el denominado regulón *vir*, el cual responde a las condiciones cambiantes a las que el microorganismo enfrenta durante su proceso infectivo; en su mayoría, la expresión de los genes implicados es regulada positivamente a nivel transcripcional por la proteína Mga (también conocida como VirR o Mry); no obstante, también se han descrito otras dos proteínas regulatorias: el regulador positivo RofA y el regulador negativo Nra (50, 85).

Los genes de virulencia controlados por Mga participan trascendentalmente en la adhesión bacteriana, en la invasión y en la evasión de las defensas del humano. En suma, el regulón *vir* incluye a los genes: **a)** *emm*, que codifica para la proteína M; **b)** *mrp* (de *M-related protein*, también conocida como *fcr*) y *enn*, que contribuyen a la resistencia fagocitaria, dado que sus productos se unen a la IgA; **c)** *sof* (de *serum opacity factor*), que expresa una proteína que se une a fibronectina; **d)** *sic*, que sintetiza un inhibidor del complemento; y **e)** *scpA*, cuyo producto: peptidasa de C5a, inactiva al complemento (5, 12, 14, 21, 45).

Adicionalmente, Mga ejerce la auto-regulación de su propio gen *mga*; este último, junto con el *mrp*, el *emm*, el *enn* y el *scpA*, constituyen una ramificación conocida como core del regulón *vir*, cuya transcripción ocurre monocistronicamente (21).

En las cepas SOF-positivas (que sintetizan factor de opacidad del suero), el gen *sof* se localiza al menos a 15 kb del core del regulón *vir* (relativamente lejos del racimo antes mencionado) y, en cuanto a las SIC-positivas, el gen *sic* sí se encuentra incorporado a aquella región (10).

Por su parte, los genes que codifican para estreptococcina (*scnA*), cisteín-proteinasa (*speB*), oligopéptido-permeasa (*opp*) y algunos otros factores, son controlados positivamente por Mga, si bien aún no se ha logrado determinar si el estímulo es directo o indirecto (21).

Es interesante citar que si bien Nra actúa como represor del regulón *vir*, la Mga controla positivamente la transcripción de aquélla; este fenómeno sólo confirma que la regulación de los factores de virulencia asociados al *Locus mga* es producto de toda una compleja red de acción (15, 50).

IV. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

i. Antibióticoterapia

De acuerdo con diversas observaciones, una persona con faringitis que es tratada con antibióticos dentro de los nueve días que suceden a la aparición de los síntomas, llega a ser protegida contra la posterior adquisición de fiebre reumática; aparentemente, después de dicho lapso las proteínas bacterianas tóxicas se encontrarán circulando en la sangre y la respuesta inmune estará en marcha, aún cuando no haya alcanzado sus niveles máximos (36).

Es decir que, aunque la faringitis estreptocócica es considerada como una patología autolimitada, es importante que se trate con antimicrobianos para evitar el desarrollo de fiebre reumática o glomerulonefritis (36).

Sólo cerca de la cuarta parte de las cepas de *S. pyogenes* causan alguna de ambas afecciones y no todos los individuos colonizados por ellas. Cuando aparecen brotes epidémicos de faringitis estreptocócica, la antibiótico-terapia profiláctica ayuda a impedir la diseminación del microorganismo entre la población; sin embargo, esta medida no resulta exitosa en todos los casos, ya que las cepas pueden haber adquirido resistencia contra el fármaco más utilizado: la penicilina (79).

Evidentemente, la lógica de emplear antibióticos indiscriminadamente también presenta amplias desventajas, ya que la mayor parte de las faringitis es causada por virus y éstos no son agentes etiológicos de fiebre reumática ni de glomerulonefritis (79).

En consecuencia, la acción más recomendable consiste en realizar pruebas de laboratorio antes de establecer la antibiótico-terapia aunque, desafortunadamente, numerosos médicos insisten en su muy cuestionable habilidad para distinguir las faringitis bacterianas con base en los síntomas del paciente (36).

Comúnmente, la penicilina es el antibiótico seleccionado para instituir la terapéutica, no obstante, la eritromicina representa una opción adecuada cuando el paciente es hipersensible a aquélla o la cepa es productora de β -lactamasas (55).

Ciertamente, las dosis asociadas a individuos con fiebre reumática deben ser mayores pero, sobre todo, mucho más prolongadas, a fin de evitar infecciones recurrentes que conduzcan a la aparición de lesiones cardíacas (79).

Por lo que se refiere a la moderna forma de fiebre escarlatina, ésta es una enfermedad autolimitada, por lo que generalmente no requiere de tratamiento. Por el contrario, el TSLs y otras afecciones invasivas severas por *S. pyogenes*,

representan emergencias médicas y deben tratarse de manera muy agresiva; los focos infecciosos deben eliminarse inmediatamente para evitar la considerable producción de toxinas, principalmente cuando existe la posibilidad de septicemia o ésta ya ha ocurrido (52).

Afortunadamente, la mayoría de las cepas de *S. pyogenes* continúa siendo susceptible a la penicilina y a muchos otros antibióticos (36, 52, 90).

ii. Avances en el diseño de vacunas

Desde hace más de 50 años, Lancefield mostró que la proteína M superficial del microorganismo representaba el primer candidato para elaborar una vacuna que protegiera contra la infección estreptocócica; sin embargo, con el paso de los años se comprobó que los Acs IgG dirigidos contra esa molécula proteica sólo neutralizaba a un limitado número de cepas, habida cuenta que la mencionada proteína M presenta una gran diversidad de serotipos (46, 62).

De hecho, más recientemente se ha establecido que una respuesta secretoria local contra ciertas secuencias de dicha proteína puede generar mejores resultados y prevenir la colonización estreptocócica en la faringe de modelos murinos (79).

Es decir, la IgG sérica dirigida contra la porción hipervariable amino-terminal de la proteína M sí conduce a la fijación del complemento y a la opsonización por parte de los leucocitos PMNs, pero ello solamente ocurre cuando se trata del serotipo homólogo (79).

En 1979, Beachey y cols emplearon un extracto obtenido a partir de la proteína M24 tratada con pepsina, para inmunizar voluntarios humanos y encontraron que dicho fragmento –altamente purificado– inducía una indeseable respuesta tipo-específica pero no provocaba reacciones de hipersensibilidad retardada (49).

En caso de que en el futuro se compruebe plenamente que la Spe es la responsable del TSLs, resultará más factible diseñar una vacuna efectiva; por el momento, las vacunas seguirán elaborándose pensando en neutralizar a la proteína M, dado que los Acs correspondientes han demostrado ser protectores y la trascendencia de la Spe permanece siendo un tanto incierta (49).

Evidentemente, persisten dos problemáticas relacionadas con la proteína M; por un lado, existe un gran número de serotipos M, aunque está debidamente comprobado que sólo algunos de ellos se asocian a cepas causantes de padecimientos graves; de hecho, el análisis de los aislamientos implicados en los brotes recientes sugiere que

sólo una parte de ellos, estrechamente relacionados entre sí, son los responsables de casi todas las epidemias en el mundo (62).

Por otra parte, el problema más serio consiste que los Acs inducidos por ciertos serotipos M presentan epítomos de reacción cruzada con los tejidos cardiacos humanos, lo que convertiría a las vacunas correspondientes en factores de gran peligrosidad (47).

V. CONCLUSIONES

1. La actual clasificación de los estreptococos beta-hemolíticos no descalifica completamente a los esquemas de Lancefield y Brown, pero considera que sólo las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro son virulentas y pirogénicas, en tanto que las menores de tales dimensiones, realmente pertenecen al grupo “*anginosus*” o “*Streptococcus milleri*”, cuyas principales especies son *S. anginosus*, *S. intermedius* y *S. constellatus*.
2. Los Ags del hospedero que podrían resultar determinantes en las manifestaciones clínicas de la fiebre reumática, son: la miosina, treopomiosina, queratina, vimentina, laminina y N-acetil- β -D-glucosamina; por su parte, las cuatro determinantes antigénicas estreptocócicas que inducen dicha enfermedad, son: la proteína de 60 kDa, la de 67 kDa y la M, así como la propia N-acetil- β -D-glucosamina.
3. De acuerdo con numerosos estudios, la proteína M estreptocócica podría representar el principal factor desencadenante de la fiebre reumática: Los Acs monoclonales anti-miosina humana también reaccionan con péptidos presentes en la proteína M5; Existe un 80 % de similitud entre el segmento

NT4 de M5 y la miosina cardíaca humana; dicho péptido se encuentra repetida cuatro veces más en la M5 que en la proteína humana, lo que explicaría el extraño origen del proceso autoinmune.

4. En cuanto a la glomerulonefritis postestreptocócica, el suero de los pacientes presenta Acs dirigidos contra laminina, colágena y otras moléculas localizadas en la membrana basal del glomerulo, las cuales también comparten determinantes antigénicas con la proteína estreptocócica M12. De este modo, la enfermedad inicia con una nefritis infecciosa y, en una segunda etapa, la reactividad cruzada entre los glomerulos y la proteína M promueve la producción de los Acs antiglomerulares.
5. El TSLS es más peligroso que el SST, se debe a que el microorganismo ocasiona septicemia en forma paralela a la liberación de la Spe y su pronta letalidad afecta tanto a los internos de los hospitales como a los individuos que integran la comunidad.
6. El actual incremento del TSLS y de las enfermedades sistémicas estreptocócicas, se debe en gran parte a la capacidad de las nuevas cepas M1 inv⁺ de *S. pyogenes* para ingresar a las células eucariotes; dicha

subclona es muy resistente a la penicilina y basa su notable invasividad en la participación de las proteínas M, F y SfbI, así como en la adquisición de dos profagos de virulencia.

7. La proteína M media la adherencia del microorganismo a la piel, mientras que la proteína F desempeña la misma función en las vías respiratorias altas, merced a su gran afinidad hacia la fibronectina (Fn) predominante en garganta y amígdalas.
8. Las actuales cepas de *S. pyogenes* evaden e interfieren eficazmente las defensas del hospedero: su cápsula es de ácido hialurónico -compuesto también producido por el humano-, la C5a hidrolasa degrada al quimioatrayente C5a, la proteína M adsorbe al factor plasmático H -que promueve la degradación de C3b-, su continua variación antigénica impide la opsonización y otras proteínas similares a la M adsorben al fragmento Fc de los Acs IgG e IgA, recubriendo al microorganismo con sustancias propias del individuo.
9. El diagnóstico de laboratorio de las estreptococcias continúa fundamentándose en el aislamiento del microorganismo en gelosa sangre de carnero, seguido por la realización de pruebas microbiológicas -tales como

la de sensibilidad a 0.04 U de bacitracina-, a las cuales se sugiere complementar con reacciones de coagulación.

10. La Spe es muy similar a la TSST-1 de *S. aureus*, es codificada por los bacteriófagos T12, T14 y CS112, y ejerce su acción nociva actuando como superantígeno: funge como puente de unión entre el MHC II de las ACP y las células T, activando a gran cantidad de estas últimas, lo que se traduce en concentraciones muy tóxicas de IL-1, IL-2, TNF- α y otras diversas citocinas, responsables de graves trastornos del sistema circulatorio y de algunos otros signos asociados al estado de shock.

11. De acuerdo con la actual peligrosidad de *S. pyogenes* y con la finalidad de prevenir el desarrollo de fiebre reumática o glomerulonefritis, se recomienda tratar con antibióticos los cuadros de faringitis, dentro de los primeros nueve días de la enfermedad; dicha medida subraya la trascendencia de realizar oportuna y adecuadamente al diagnóstico de laboratorio.

12. En el caso de que se presenten brotes epidémicos de faringitis estreptocócica, la antibiótico-terapia profiláctica entre la comunidad infantil resulta de gran utilidad para que no se adquieran las patologías

ocasionadas por el microorganismo y para impedir que éste se disemine entre la población; a tal respecto, la penicilina continúa siendo una opción relativamente efectiva, aunque en los casos de resistencia o hipersensibilidad esa β lactamina debe sustituirse por eritromicina.

13. Una vez que aparecen el TSLs, la fiebre reumática o la glomerulonefritis, las dosis del antimicrobiano seleccionado deberán ser mayores pero, sobre todo, mucho más prolongadas, a fin de evitar infecciones recurrentes y lesiones mayores.

14. En ciertos países desarrollados, el TSLs deriva en emergencias médicas destinadas a salvar la vida de los enfermos y a erradicar potenciales focos de diseminación. De hecho, actualmente se trabaja intensamente en la elaboración de vacunas elaboradas a base de determinados serotipos de proteína M —aún considerando las desventajas asociadas a su gran diversidad—, e iniciarán las que se fundamentan en el empleo de toxoide Spe.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbott W H G, Geursen A., Peake J S, Simpson I J, Skinner M A, and Tan P L J: Search for linkage disequilibrium between alleles in the T cell receptor α β chain loci and susceptibility to rheumatic fever, *Immunol Cell Biol*, 1995; 73:369-371.
2. Accardo P, Sanchez -Corral P, Criado O, García E, Rodriguez de Cordoba S: Binding of human complement component C4b-binding protein (C4BP) to *Streptococcus pyogenes* involves the C4b-binding site, *J Immunol*, 1996; 157:4935-4939.
3. Adderson E E, Shikhman A R, Ward K E, and Cunningham M W: Molecular analysis of polyreactive monoclonal antibodies from rheumatic carditis: human anti-N-acetylglucosamine/anti-myosin antibody V region genes, *J Immunol* 1998 161:2020-2031.
4. Ahmed S, Ayoub EA, Scornik JC, Wang C And She J: Poststreptococcal reactive arthritis, *Arthrit & Rheumat*, 1998; 41(6): 1096-1102.
5. Akasheh M S, Al-Lozi M, Affarah H B, Hajjiri F K and Al-Jitawi S: Rapidly progressive glomerulonephritis complicating acute rheumatic fever, *Postgrad Med J*, 1995; 71:553-566.
6. Akesson P, Sjöholm AG, and Björck L: Protein SIC a novel extracellular protein of *Streptococcus pyogenes* interfering with complement function, *J Biol Chem*, 1996; 271(2): 1081-1088.
7. Antone S M, Adderson E E, Mertens N M J and Cunningham M W: Molecular analysis of V gene sequences encoding cytotoxic anti-streptococcal/antimyosin monoclonal antibody 36.2.2 that recognizes the heart cell surface protein laminin, *J Immunol*, 1997; 159:5422-5430.
8. Ashbaugh C D, Warren H B, Carey V J and Wessels M R: Molecular analysis of the role of the group A streptococcal cysteine protease, hyaluronic acid capsule, and M protein in a murine model of human invasive soft-tissue infection, *J Clin. Invest*, 1998; 102:550-560.
9. Barry M A, Matthews K and Tormey P: Outbreak of invasive group A streptococcus associated with varicella in a childcare center, *MMWR*, 1997; 46(40):944-948.

10. Berge A, Rasmussen M and Björck L: Identification of an insertion sequence located in a region encoding virulence factors of *Streptococcus pyogenes*, *Infect Immun*, 1998; 66(7):3449-3453.
11. Berkower C, Ravins M, Moses A E and Hanski E: Expression of different group A streptococcal M proteins in an isogenic background demonstrates diversity in adherence to and invasion of eukaryotic cells, *Mol. Microbiol*, 1999; 31:1463-1475.
12. Bessen D E, Fiorentino T R and Hillingshead S K: Molecular markers for throat and skin isolates of group A streptococci, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:537-543.
13. Bisno A L: Group A streptococcal infections and acute rheumatic fever, *N Eng J Med*, 1991; 325(11):783-793.
14. Boyle D P M: Variation of multifunctional surface binding proteins- a virulence strategy for group A streptococci?, *J Theor Biol*, 1995; 173:415-426.
15. Burns E, Marciel A M and Musser J M: Structure-function and pathogenesis studies of *Streptococcus pyogenes* extracellular cysteine protease, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:589-591.
16. Burova A L and Schalen C: Antigenic diversity of IgA receptors in *Streptococcus pyogenes*, *FEMS Immunol Med Microb*, 1993; 7:47-54.
17. Caparon M G, Geist R T, Perez-Casal J and Scott J: Environmental regulation of virulence in a group A streptococci: Transcription of the gene encoding M protein by carbon dioxide, *J. Bacteriol*, 1992; 174(17): 5693-5701.
18. Cavaillon J, Müller-Alouf H and Alouf J E: Cytokines in streptococcal infections, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:869-879.
19. Chan A W, Webb G, Veilend H and Gold W: Delayed diagnosis of acute rheumatic fever in adults. A forgotten cause of febrile polyarthriti, *J Rheumatol*, 1996; 23:1999-2001.
20. Chaussee MS, Liu J, Stevens D L and Ferretti J J: effects of environmental factors on streptococcal erythrogenic toxin A (SPE A) production by *Streptococcus pyogenes*, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:551-554.
21. Christner R, Li Z, Raeder R, Podbielski A, and Boyle M: Identification of key gene products required for acquisition of plasmin-like enzymatic activity by group A streptococci. *J Infect Dis*, 1997; 175:1115-1120.

22. Cleary P, and Retnoningrum D: Group A streptococcal immunoglobulin-binding proteins: adhesins, molecular mimicry or sensory proteins?, Trends Microbiol, 1994; 2(4):131-135.
23. Cleary P P, LaPenta D, Vessela R, Lam H, and Cue D: A globally disseminated M1 subclone of group A streptococci differs from other subclones by 70 kilobases of prophage DNA and capacity for high-frequency intracellular invasion, Infect Immun, 1998; 66:5592-5597.
24. Cleary P P, McLandsborough L, Ikeda L, Cue D, Krawczak J, and Lam H: High frequency intracellular infection and erythrogenic toxin A expression undergo phase variation in M1 group A streptococci, Mol Microbiol, 1998; 28:157-167.
25. Cockerill F R, MacDonald K L, Thompson R L, Roberson F, Kohner P C, Besser-Wiek J, Manahan J M, Musser J M, Schlievert P M, Talbot J, Frankfurt B, Steckelberg J M, Wilson W R, and Osterholm M T: An outbreak of invasive group A streptococcal disease associated with high carriage rates of the invasive clone among school-aged children, JAMA, 1997; 277:38-43.
26. Congeni B L: The resurgence of acute rheumatic fever in the United States, Pediatric Ann, 1992; 21(12):816-820.
27. Courtney H S, Dale J B, and Hasty D L: Host cell specific adhesins of group A streptococci, Adv Exp Med Biol, 1997; 418:605-606.
28. Courtney H S, Dale J B, and Hasty D L: Differential effects of the fibronectin-binding protein, FBP54, on adhesion of group A streptococci to human buccal cells and Hep-2 tissue culture cells, Infect immun, 1996; 64(7): 2415-2419.
29. Courtney H S, Ofek I, and Hasty D L: M protein mediated adhesion of M type 24 *Streptococcus pyogenes* stimulates release of interleukin-6 by Hep-2 tissue culture cells, FEMS Microbiol Letters, 1997; 151:65-70.
30. Cu A G, Mezzano S, and Zabriskie J B: Role of streptococcal proteinase in acute- post-streptococcal glomerulonephritis, Adv Exp Med Biol, 1997; 418:137-140.
31. Cue D, and Cleary P P: High-frequency invasion of epithelial cells by *Streptococcus pyogenes* can be activated by fibrinogen and peptides containing the sequence RGD, Infect Immun, 1997; 65(7):2759-2764.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

32. Cue D, Dombek P E, Lam H, and Cleary P P: Serotype M1 *Streptococcus pyogenes* encodes multiple pathways for entry into human epithelial cells, *Infect Immun*, 1998; 66:4593-4601.
33. Cue D, Dombek P E, Lam H, and Cleary P P: Intracellular invasion by *Streptococcus pyogenes* invasins, host receptors, and relevance to human disease, *Gram Positive Pathogens* A.S.M. Press, 2000; 3:27-33.
34. Cunningham M W, McCormack J M, Fenderson P G, Ho M K, Beachey E H, and Dale J B: Human and murine antibodies cross-reactive with streptococcal M protein and myosin recognize the sequence GLN-LYS-SER-LYS-GLN in M protein, *J Immunol*, 1989; 143:2677-2683.
35. Cunningham M W, and Quinn A: Immunological crossreactivity between the class I epitope of streptococcal M protein and myosin, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:887-891.
36. Dajani A, Taubert K, Ferrieri P, Peter G, and Shulman S: Treatment of acute streptococcal pharyngitis and prevention of rheumatic fever: a statement for health professionals, *Pediatrics*, 1995; 96(4):758-764.
37. Davies D H, Mcgeer A, Sshwartz M D, Green K, Cann D, Simor A E, Low D E, and the Ontario Group A Streptococcal Study Group: Invasive group A streptococcal infections in Ontario Canada, *N Engl J Med*, 1996; 335(8): 547-554.
38. D'Costa S, and Boyle M D P: Interaction of group A streptococcus within human plasma results in assembly of a surface plasminogen activator that contributes to occupancy of surface plasmin-binding structures, *Microb Pathogen*, 1998; 24:341-349.
39. Dedeoglu I O, Springate J E, Waz W R, Stapleton F B, and Feld L G: Prolonged hypocomplementemia in poststreptococcal acute glomerulonephritis, *Clin Nephrol*, 1996; 46(5):302-305.
40. Dell A, Antone S M, Gauntt C J, Crossley C A, Clark W A, and Cunningham M W: Autoimmune determinants of rheumatic carditis: localization of epitopes in human cardiac myosin, *Eur Heart J*, 1991; 12:158-162.
41. Demers B, Simor A E, Vellend H, Schlievert P M, Byrne S, Jamieson F, Walmsley S, and Low D E: Severe invasive group A streptococcal infections in Ontario Canada 1987-1991, *Clin. Infect Dis*, 1993; 16:792-800.

42. Dombek P E, Sedgewick J, Lam H, Ruschkowski S, Finlay B B, and Cleary P P: High frequency intracellular invasion of epithelial cells by serotype M1 group A streptococci: M1 protein mediated invasion and cytoskeletal rearrangements, *Mol Microbiol*, 1999; 31:859-870.
43. Eichbaum Q G, Hughes J E, Epstein J E, and Beatty D W: Rheumatic fever: autoantibodies against a variety of cardiac, nuclear, and streptococcal antigens, *Ann Rheum Dis*, 1995; 54:740-743.
44. Eriksson K G B, Andersson J, Holm E S, and Norgren M: Invasive group A streptococcal infections: TIM1 isolates expressing pyrogenic exotoxins A and B in combination with selective lack of toxin-neutralizing antibodies are associated with increased risk of streptococcal toxic shock syndrome, *J Infect Dis*, 1999; 180:410-418.
45. Facklam R, Beall B, Efstratiou A, Fischetti V, Kaplan E, Kriz P, Lovgren M, Martin D, Schwartz B, Totolian A, Bessen D, Hollingshead S, Rubin F, Scott J, and Tyrrell G: Report on an international workshop: demonstration of emm typing and validation of provisional M-types of group A streptococci, *Emerg Infect*, 1999; 5:247-253.
46. Fenderson P G, Fischetti V A, and Cunningham M W: Tropomyosin shares immunologic epitopes with group A streptococcal M proteins, *J Immunol*, 1989; 142:2475-2481.
47. Ferrieri P, and Horaud T: Unraveling the mysteries of streptococci and their relations with the host, *Trend in Microbiol*, 1997; 5(1):5-7.
48. Fischetti V A: Streptococcal M protein: molecular design and biological behavior, *Clin Microbiol Rev*, 1989; 2:285-314.
49. Fischetti V A: Vaccine approaches to protect against group A streptococcal pharyngitis, *Gram positive Pathogens*, A S M Press, 2000; 10:96-104.
50. Gardiner D L, Goodfellow A M, Martin D R, and Sriprakash K S: Group A streptococcal Vir types are M protein gene (emm) sequence type specific, *J Clin Microbiol*, 1998; 36:902-907.
51. Gaassch W H: Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever, *Clin Cardiol*, 1992; 268(15):2069-2073.
52. Gerber M: Treatment failures and carriers: perception or problems?, *Pediatr Infect Dis J*, 1994; 13:576-579.

53. Ginsburg I, Ward P A, and Varani J: Can we learn from the pathogenetic strategies of group A hemolytic streptococci how tissues are injured and organs fail in post infectious and inflammatory sequelae?, *FEMS Immun Med Microb*, 1999; 25:325-338.
54. Goodfellow A.M., Hibble M., Talay S., Kreikemeyer B., Currie B.T., Sriprakash K.s., and Chhatwal G.S. Distribution and antigenicity of fibronectin binding proteins (SfbI and SfbII) of *Streptococcus pyogenes* clinical isolates from the northern territory, Australia, *J. Clin. Microb*. 2000 38(1):389-392.
55. Gubbay L, López E G, and Galanternik L: Streptococcal pharyngitis in Argentina, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:49-55.
56. Gutiérrez S, Molina J, Molina J F, García C O, Cuellar M L, and Espinoza L R: Poststreptococcal reactive arthritis, clinical course, and outcome in 6 adults patients, *J Rheum*, 1995; 22(9):1710-1713.
57. Guzmán C A, Talay S R, Molinari G, Medina E, and Chhatwal G S: Protective immune response against *Streptococcus pyogenes* in mice after intranasal vaccination with the fibronectin binding protein SfbI, *J Infect Dis*, 1999; 179:901-906.
58. Hanski E, Fogg G, Tovi A, Okada N, Burstein I, and Caparon M: Molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* adhesion, *Meth Enzim*, 1997; 253: 269-304.
59. Hanski E, Horwitz P A, and Caparon M G: Expression of protein F, the fibronectin-binding protein of *Streptococcus pyogenes* JRS4, in heterologous streptococcal and enterococcal strains promotes their adherence to respiratory epithelial cells, *infect immun*, 1992; 60:5119
60. Hanski E, Jaffe J, and Ozeri V: Proteins F1 and F2 of *Streptococcus pyogenes*, *Adv Exp Med Biol*, 1996; 408:141-149.
61. Harris S L, Craig L, Mehroke J S, Rashed M, Zwick M B, Kenar K, Toone E J, Greenspan N, Auzanneau F, Marino-Albernas J R, Pinto B M, and Scott J K: Exploring the basis of peptide carbohydrate crossreactivity: Evidence for discrimination by peptides between closely related anti-carbohydrate antibodies, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94:2454-2459.
62. Hasty D L, and Courtney H S: Group A streptococcal adhesion All of the theories are correct, *Adv Exp Med Biol*, 1996; 408:81-93.
63. Hedges S R, Agace W W, and Svanborg C: Epithelial cytokines responses and mucosal cytokine networks, *Trends Microbiol*, 1995; 3(7):266-269.

64. Herwald H, Collin M, Müller-Esterl W, and Björck L; Streptococcal cysteine proteinase releases kinins: a novel virulence mechanism, *J Exp Med*, 1996; 184:665-673.
65. Hoge W C, Schwartz B, Talkington D T, Breiman F R, Macnell E M, and Engender S J: The changing epidemiology of invasive group A streptococcal infections and the emergence of streptococcal toxic shock-like syndrome, *JAMA*, 1993; 269(3): 384-389.
66. Holm S E, Köhler W, Kaplan E L, Schlievert P M, Alouf J E, Stevens D L, and Koib M: Streptococcal toxic shock syndrome (STSS), *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418: 193-199.
67. Hunolstein C V, Suñigo B, Pataracchia M, Scopetti F, Recchia S, Greco D, and Orefici G: Clinical and microbiological characteristics of severe group A streptococcal infections in Italy, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:79-81.
68. Hynes R O: Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion, *Cell* 1992; 69:11-25.
69. Jadoun J, Ozeri V, Burstein E, Skutelsky E, Hanski E, and Sela S: Protein F1 is required for efficient entry of *Streptococcus pyogenes* into epithelial cells, *J Infect Dis* 1998; 178:147-158.
70. Ji Y, McLandsborough L, Kondagunta A, and Cleary P P: C5a peptidase alters clearance and trafficking of group A streptococci by infected mice, *Infect Immun* 1996; 64:503-510.
71. Ji Y, Carlson B, Kondagunta A, and Cleary P P: Intranasal immunization with C5a peptidase prevents nasopharyngeal colonization of mice by the group A *Streptococcus*, *Infect Immun*, 1997; 65:2080-2087.
72. Johnson E, Thern A, Dahlbäck B, Héden L, Wikström M, Lindahl G: Human C4BP binds to the hypervariable n-terminal region of many members in the streptococcal M protein family, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:505-510.
73. Johnson L P, Stevens D L, and Kaplan E L: Epidemiologic analysis of group A streptococcal serotypes associated with severe systemic infections, rheumatic fever, or uncomplicated pharyngitis, *J Infect Dis*, 1992; 166:374-382.
74. Kai K, Riskiishi H, Takahashi M, and Kumagi K: Lipopolysaccharid-dependent down regulation of CD27 expression on T cell activated with superantigen, *Immunol*, 1999; 98:289-295.

75. Kamezawa Y, Nakahara T, Nakano S, Abe Y, Nozaki-Renard J, and Isono T: Streptococcal mitogenic exotoxin Z, a novel acidic superantigenic toxin produced by a T1 strain of *Streptococcus pyogenes*, *Infect Immun*, 1997; 65:3828-3833.
76. Katerov V, Andreev A, Schalén C, and Totolian A A: Protein F, a fibronectin – binding protein of *Streptococcus pyogenes*, also binds human fibrinogen: isolation of the protein and mapping of the binding region, *Microbiol*, 1998; 144:119-126.
77. Kefalides N A, Pegg M T, Oho N, Poon-King T, Zabriskie J, and Fillit H: Antibodies to basement membrane collagen and to laminin are present in sera from patients with poststreptococcal glomerulonephritis, *J Exp Med*, 1986; 163:588-602
78. Kehoe M A, Kapur V, Whatmore A M, and Musser J M: Horizontal gene transfer among group A streptococci: implications for pathogenesis and epidemiology, *Trends Microbiol*, 1996; 4:436-443.
79. Klein J O: Management of streptococcal pharyngitis, *Pediatr Infect Dis J*, 1994; 13:572-575.
80. Kraus W, Seyer J M, and Beachey E H: Vimentin-cross-reactive epitope of type 12 streptococcal M protein, *Infect Immun*, 1989; 57:2457-2461.
81. Kreikemeyer B, Talay S R, and Chhatwal G S: Characterization of a novel fibronectin-binding surface protein in group A streptococci, *Mol Microbiol*, 1995; 17:137-145.
82. Kuo Ch, Jong J, Tsai P, Kao F, Lei H, Lin M T, and Lin Y: Streptococcal pyrogenic exotoxin B induces apoptosis and reduces phagocytic activity in U937 cells, *Infect. & Immun*, 1999; 67(1) 126-130.
83. LaPenta D, Rubens C, Chi E, and Cleary P P: Group A streptococci efficiently invade human respiratory epithelial cells, *Proc Natl Sci USA*, 1994; 91: 12115-12119.
84. Lee J, and Caparon M: An oxygen – induced but protein F – independent fibronectin binding pathway in *Streptococcus pyogenes*, *Infect Immun*, 1996; 64(2) 413-421.
85. Leomad B A B, Woischnik M And Podbielski A: Production of stabilized virulence factor – negative variants by group A streptococci during stationary phase, *Infect. Immun*, 1999; 66(8). 3841-3847.

86. Liang O D, Preissner K T, and Chhatwal G S: The hemopexin-type repeats of human vitronectin are recognized by *Streptococcus pyogenes*, *Biochem Biophys Res Commun*, 1997; 234:445-449.
87. Liao L, Sindhvani R, rojkind M, Factor S, Leinwand L, and diamond B: Antibody – mediated autoimmune myocarditis depends on genetically determined target organ sensitivity, *J Exp Med*, 1995; 181:1123-1131.
88. Lottenberg R, Minning-Wenz D, and Boyle M: Capturing host plasm(ogen): a common mechanism for invasive pathogens?, *Trends in Microbiol*, 1994; 2(1):20-24.
89. Lukopmski S, Burns E H, Wyde P R, Podbielski A, Rurangirwa J, Moore-Poveda D K, Musser J M: Genetic inactivation of an extracellular cysteine protease (Speb) expressed by *Streptococcus pyogenes* decreases resistance to phagocytosis and dissemination to organs, *Infect Immun*, 1998; 66:771-776.
90. Macris M, Hartman N, Murray B, Klein R, Roberts R, Kaplan E, Horn D, Zabriskie j: Studies of the continiung susceptibility of group A streptococcal strains to penicillin during eight decades, *Pediat Infect Dis J*, 1998; 17:377-81.
91. Markowitz M: Changing epidemiology of group A streptococcal infections. *Pediatric Infec Dis J*, 1994; 13:557-560.
92. Martin D: Rheumatogenic and nephritogenic group A streptococci, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:21-26.
93. McCormick J, Schlievert P: Toxins and superantigens of group A streptococci. *Gram Positive Pathogens*, ASM Press Washintong D.C. 2000; 43-53.
94. McShan W M, and Ferretti J J: Genetic diversity in temperate bacteriophages of *Streptococcus pyogenes*: identification of a second attachment site for phages carrying the erythrogenic toxin A gene, *J Bacteriol*, 1997; 179:6509-6511.
95. McShan W M, Tang Y F, and Ferretti J J: Bacteriophage T12 of *Streptococcus pyogenes* integrates into the gene encoding a serine tRNA, *Mol Microbiol*, 1997; 23:719-728.
96. McShan W M, McLaughlin R E, Nordstrand A, and Ferretti J J: Vectors containing streptococcal bacteriophage integrases for site-specific gene insertion, *Methods Cell Sci*, 1998; 20:51-57.

97. Medina E, Talay S, Singh G, Guzman C: Fibronectin-binding protein I of *Streptococcus pyogenes* is a promising adjuvant for antigens delivered by mucosal route, *Eur J Immunol*, 1998; 28:1069-1077
98. Molinari G, and Chhatwal G S: Invasion and survival of *Streptococcus pyogenes* in eukaryotic cells correlates with the source of the clinical isolates, *J Infect Dis*, 1998; 177:1600-1607.
99. Molinari G, Talay S R, Valentin-Weigand P, Rohde M, and Chhatwal G S: The fibronectin-binding protein of *Streptococcus pyogenes*, Sibi, is involved in the internalization of group A streptococci by epithelial cells, *Infect Immun*, 1997; 65:1357-1363.
100. Mori K, Kamakawaji N, and Sasazuki T: Persistent elevation of immunoglobulin G titer against the C region of recombinant group A streptococcal M protein in patients with rheumatic fever, *Pediatr Res*, 1996; 55:502-506.
101. Moses A E, Wessels M R, Zalcmn K, Alberti S, Natanson-Yaron S, Menes T, and Hanski E: Relative contributions of hyaluronic acid capsule and M protein to virulence in a mucoid strain of group A *Streptococcus*, *Infect Immun*, 1997; 65:64-71.
102. Moses A, Ziv A, Harari M, Rahav G, Shapiro M, Engelhard D: Increased incidence and severity of *Streptococcus pyogenes* bacteremia in young children, *Peditric Infec Dis J*, 1995; 14:767-770.
103. Müller-Alouf H, Gerlach D, Desreumaux P, Leportier C, Alouf J E, and Capron M: Streptococcal pyrogenic exotoxin A (SPE A) superantigen induced production of hematopoietic cytokines, IL-12 and IL-13 by human peripheral blood mononuclear cells, *Microb Pathog*, 1997; 23:265-272.
104. Musher D M, Hamill R J, Wright C E, Clarridge J E, Ashton C A: Trends in bacteremic infection due to *Streptococcus pyogenes* (Group A streptococcus), 1986-1995, *Emergency Infectus Dis*, 1996; 2:1-4
105. Musser J M, Kapur V, Szeto J, Pan X, Swanson D S, and Martin D M: Genetic diversity and relationships among *Streptococcus pyogenes* strains expressing serotype M1 protein: recent intercontinental spread of a subclone causing episodes of human disease, *Infect Immun*, 1995; 63:994-1003.
106. Musser J M: Clinical relevance of streptococcal pyrogenic exotoxins in streptococcal toxic shock like syndrome and other severe invasive infections. *Pediatr Ann*, 1992; 12:821-828.

107. Neeman R, Keller N, Barzilai A, Korenman Z, and Sela S: Prevalence of the internalization-associated gene, prtF1, among persisting group A streptococcus strains isolated from asymptomatic carriers, Lancet, 1998; 352:1974-1977.
108. Okada k, Katano T, Kamogashira T, Zahn R J, Morimito Y., Kagami S, Yasumoto K, Kuhara T, Kuroda Y: Streptokinase gene variable region classification in streptococci: lack of correlation with post streptococcal glomerulonephritis. Clinic Nephrol, 1994; 44(1): 8-13.
109. Okada N, Liszewski M K, Atkinson J P, Caparon M: Membrane cofactor protein (CD46) is a keratynocyte receptor for the M protein of the group A streptococcus. Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92:2489-2493.
110. Okada N, Watarait M, Ozeri V, Hanski E, Caparon M, Sasakawa C: A matrix form of fibronectin mediates enhanced binding of *Streptococcus pyogenes* the host tissue. J Biol Chem, 1997; 272: 26978-26984.
111. Österlund A, Popa R, Nikkila T, Scheynius A, and Engstrand L: Intracellular reservoir of *Streptococcus pyogenes* in vivo: a possible explanation for recurrent pharyngotonsillitis, Laryngoscope, 1997; 107:640-647.
112. Ozeri V, Tovi A, Burstein I, Natanson-Yaron S, Caparon M G, Yamada K M, Akiyama S K, Vlodavsky I, and Hanski E: A two-domain mechanism for group A streptococcal adherence through protein F to the extracellular matrix, EMBO, 1996; 15:989-998.
113. Ozeri V, Rosenshine I, Mosher D F, Fässler R, and Hanski E: Roles of integrins and fibronectin in the entry of *Streptococcus pyogenes* into cells via protein F1, Mol Microbiol, 1998; 30:625-637.
114. Pancholi V, Fischetti VA: Cell to Cell signalling between group A streptococci and pharyngeal cells, Adv Exp Med Biol, 1997; 418:499-504.
115. Pancholi V, Fischetti VA: α - Enolase, a strong plasmin(ogen) binding protein on the surface of pathogenic streptococci. J Biol Chem, 1998, 273(23): 14503-14515.
116. Papageorgiu A C, Collins C M, Gutman D M, Kline J B, O'Brien S M: Tranter H. S., Acharya K.R. Structural basis for the recognition of superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin A (SpeA1) by MHC class II molecules and t-cell receptors, EMBO, 1999; 18:9-21.

117. Pichichero M: The development of immunity sequelae or the carrier state following streptococcal pharyngitis. *Pediatric Annals*, 1992 21:829-834.
118. Quinn A, Ward K, Fischetti V, Hemric M, and Cunningham M W: Immunological relationship between the class I epitope of streptococcal M protein and myosin, *Infect Immun*, 1998; 66:4418-4424.
119. Schlievert P M, Assimacopoulos A P, and P P Cleary, Severe invasive group A streptococcal disease: clinical description and mechanisms of pathogenesis, *J Lab Clin Med*, 1996; 127:13-22.
120. Schraner H M, Alberti S, Cywes C, Dougherty G, Wessels M: Hyaluronic acid capsule modulates M protein mediated adherence and acts as a ligand for attachment of group A streptococcus to CD44 on human keratinocytes. *J Clin Invest* 1998; 101: 1708-1716.
121. Schraner H M, Wessels M R: Hyaluronic acid capsule modulates interactions of group a streptococci with human epidermal keratinocytes. *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:517-523.
122. Sharma A K, Pangburn M K: Identification of three physically and functionally distinct binding sites for C3b in human complement factor H by deletion mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93:10996-11001.
123. Sharma A K, Pangburn M K: Localization by site – directed mutagenesis of the site in human complement factor H that binds to *Streptococcus pyogenes* M protein, *Infect Immun*, 1997; 65:484-487.
124. Stevens L D: Invasive group A streptococcal infections. The past, present and future. *Pediatric Infec Dis J*, 1994; 13:561-566.
125. Stevens L D: Streptococcal toxic – shock syndrome: spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. *Emerg Infect Dis*, 1995; 1(3):1-12.
126. Stevens L D: The toxins of group A streptococcus, the flesh eating bacteria. *Immunol Invest*, 1997; 26:129-150
127. Stollerman G H: Changing streptococci and rheumatic fever. *Perspectives in Biol and Med*. 1997; 40:165-183.

128. Talkington D F, Schwartz B, Black C M, Todd J K, Elliot J, Breiman R F, Facklam R R: Association of phenotypic and genotypic characteristics of invasive *Streptococcus pyogenes* isolates with clinical components of streptococcal toxic shock syndrome. *Infect Immun*, 1993; 61:3369-3374
129. Villaseñor A., Santos J I: Síndrome de shock tóxico por estreptococo beta hemolítico del grupo A: criterios diagnóstico, *Gac Med Méx*, 1999; 2:205-207
130. Wang B, Ruis N, Pentland A, Caparon M: Keratinocyte proinflammatory responses to adherent and nonadherent group A streptococci. *Infect Immun*, 1997; 65(6): 2119-2126.
131. Wilson R, Karchmer A, Dajani A, Taubert K A, Bayer A, Kaye D, Bisno L A, Ferrieri P, Shulman S., Durack D T, and Dphill: Antibiotic treatment of adults with infective endocarditis due to Streptococci, Enterococci, Staphylococci and HACEK microorganisms, *Clin Card, JAMA*, 1995; 274(21):1706-1713.
132. Winters B D, Ramasubbo N, Stinson M W: Isolation and characterization of a *Streptococcus pyogenes* protein that binds to basal laminae of human cardiac muscle. *Infect Immun*, 1993; 61(8):3259-3264.
133. Yoshizawa N, Susuki Y, Oshima S, Takeuchi A, Kondo S, Ishida A., Nakabayashi I, Nishiyama J, Tazawa K, Sagel I: Asymptomatic acute poststreptococcal glomerulonephritis following upper respiratory tract infections caused by group A streptococci, *Clin Nephrol*, 1996; 46(5): 296-301.
134. Yu C E, and Ferretti J J: Molecular characterization of new group A streptococcal bacteriophages containing the gene for streptococcal erythrogenic toxin A (speA), *Mol Gen Genet*, 1991; 231:161-168.
135. Zoric D, Kelmendi M, Shehu B, Krdzic J, and Zoric D: Acute poststreptococcal glomerulonephritis in children, *Adv Exp Med Biol*, 1997; 418:125-127.