


Curso "Actualización en el diagnóstico de microorganismos frecuentes en Meningitis e Infecciones Respiratorias Agudas Bacterianas" 2018

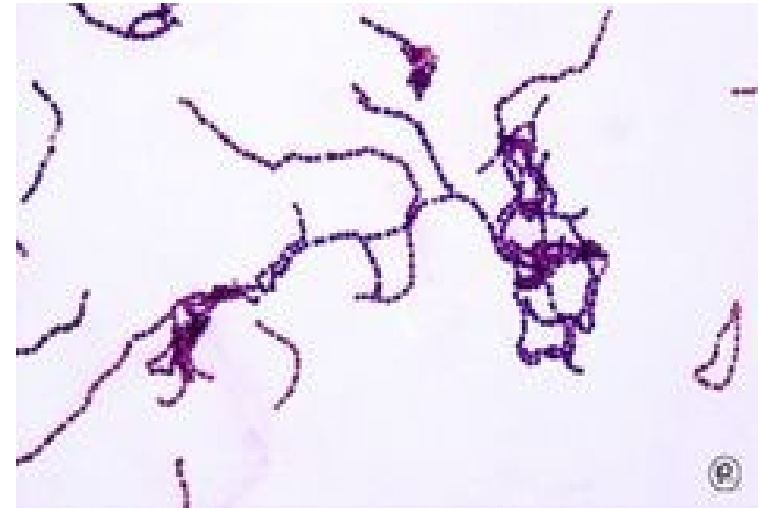
Streptococcus pyogenes

María Florencia Rocca
Servicio Bacteriología Especial
Departamento Bacteriología
INEI-ANLIS "Carlos G Malbran"
mfrocca@anlis.gov.ar

- Puede ser
 - Colonizador de faringe (<5% en adultos) y de piel
 - Causar infecciones leves: Faringitis, **Escarlatina**, Impétigo
 - o más graves: Erisipela, Bacteriemia, Fascitis necrotizante, SSTE
 - Complicaciones post-infecciosas: **Fiebre reumática** y Glomerulonefritis
 - Presentaciones menos comunes: miositis, osteomielitis, artritis séptica, neumonía, meningitis, endocarditis, pericarditis, infecciones neonatales graves
 - Afecta personas de cualquier edad.
 - Prevalencia de infección es mayor en niños > 3 años.
 - **VIAS DE TRANSMISION:** microgotas o contacto directo.
 - BROTE: reservorios ambientales (polvo, ropa de cama) / comida contaminada por manipuladores colonizados
- 

- Comprende más de 90 especies.
- ***S. pyogenes*** es el más patogénico del género
- Son firmicutes.
- **Orden:** Lactobacillales
- **Familia:** Streptococcaceae
- Diferenciación clásica: grupo de Lancefield y Hemólisis
 - **Beta hemolíticos o piogénicos (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*)**
 - **No beta hemolíticos**
- CGP en cadena, Catalasa Negativa, Anaerobio facultativo, TO de crecimiento 35-37°C.
- **Sensibles a Penicilina** → FARMACO DE ELECCION.

Otros eritromicina, cefalosporinas y clindamicina.



Adaptado al ser humano

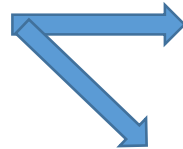


factores de virulencia

- **ADHESION Y COLONIZACION** → ácido lipoteicoico
- **EVASION DEL SISTEMA INMUNE** → cápsula de ácido hialurónico, c5 peptidasa, proteína M, streptolisina O y S, exotoxina pirogénica SpeB
- **PROPAGACION EN TEJIDOS BLANDOS** → estreptoquinasa y hialuronidasa SLS.

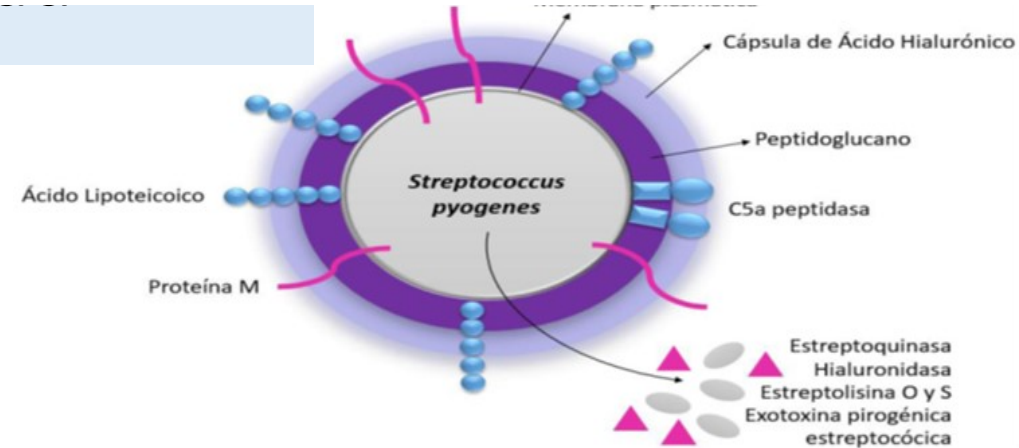
PROTEINA M: principal factor de virulencia y proteína más polimórfica

Subtipificación basada en el tipo M



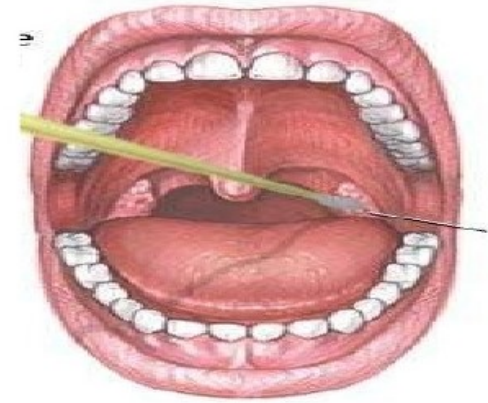
Serología (M, T, OF. Tipos M1 A M93)

Secuenciación del gen emm



COLECCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Faringitis. Pérdida de viabilidad → Recomendación: hisopos faríngeos en medio de transporte húmedo y procesamiento rápido. Puede transportarse con seguridad en hisopos secos.

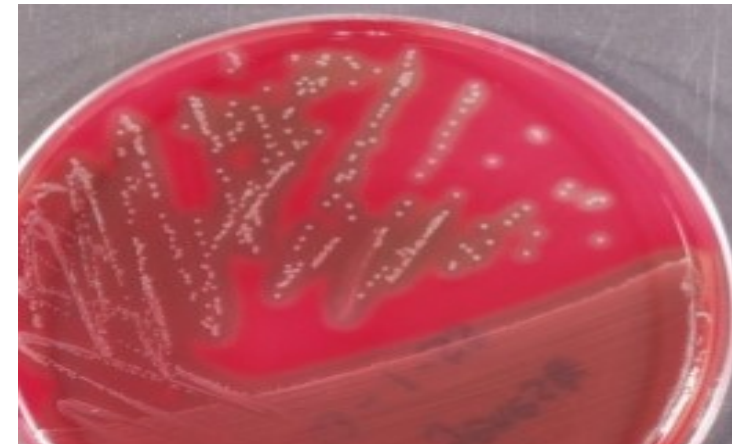


Otras muestras: secreciones de lesiones cutáneas, biopsias, LCR, pleural, HC. Microscopia directa: útil en el caso de muestras de sitios corporales estériles. Sitios no estériles: contendrán microbiota residencial, que frecuentemente incluye estreptococos.

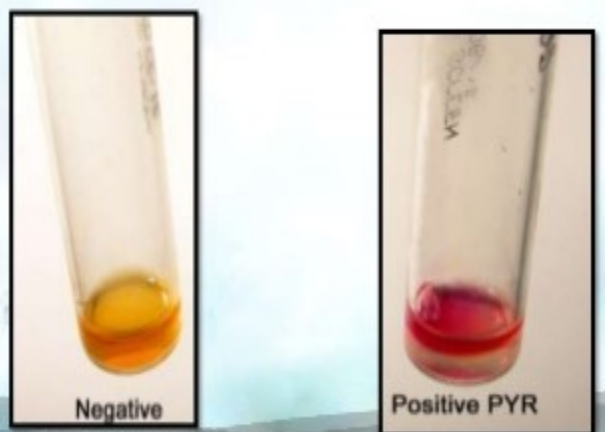
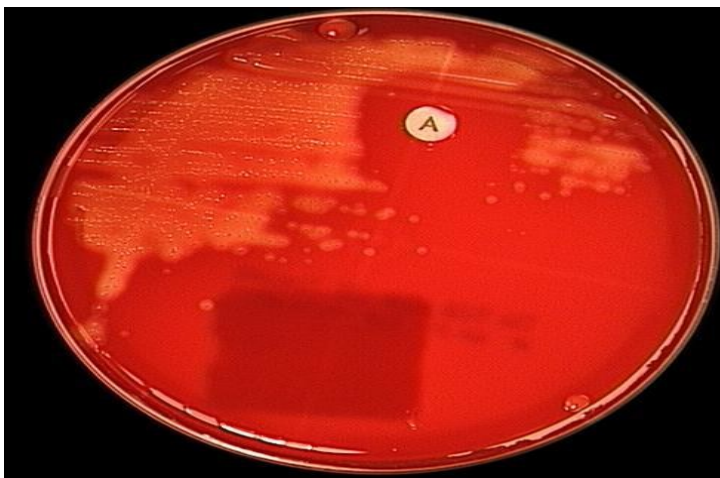
Estándar de oro → Cultivo de garganta interpretado correctamente en AS carnero 5% incubación en atmósfera normal durante 24 horas. (los resultados negativos de la prueba rápida del antígeno en niños con sintomatología, deben ser confirmados con cultivo).

β hemólisis en AS carnero

(las placas negativas deben ser reexaminadas después incubación de 24h)



- **Grupo A de Lancefield** (*S. anginosus* y *dysgalactiae* subsp. *equisimilis*)
- **Sensible a Bacitracina**
- **PYR (L- pirrolidonil Arilamidasa) +**
- **MALDI TOF:** correcta ID y análisis de clados con modelos predictivos de subtipificación



ENSAYO	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Hemólisis	Beta
Lancefield	A
Acidificación de Lactosa	+
Manitol	-
Ribosa	-
Salicina	+
Sorbitol	-
Trealosa	+
Hidrólisis de Esculina	V
Arginina	+
Hipurato	-
Reacción de VP	-
Fosfatasa alcalina	+
β -glucuronidasa	V
PYR	+
Tamaño de colonia	grande

RECOMENDACIONES DEL CDC

Table 3. Differentiation of gram-positive cocci, atypical variants of group A streptococci.

Species	Hem	Bac	PYR	VP	β -gal	β -glu	Inu	Raf	Rib
<i>S. pyogenes</i>	β, γ	S	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	β	R	-	-	+	+	-	-	+
<i>S. anginosus</i>	β, α, γ	R	-	+	-	-	-	v	-
<i>S. orisratti</i>	α	R	-	-	-	-	+	+	-

Hem, hemolysis on 5% sheep blood agar plates; Bac, bacitracin sensitivity; S, sensitive; R, resistant; VP, Voges-Proskauer reaction; β -gal, β -galactosidase reaction; β -glu, β -glucuronidase reaction; Inu, Raf, and Rib, acid formation in inulin, raffinose and ribose broth, += $\geq 85\%$ of strains positive; - = $\leq 15\%$ or less positive; v = variable reactions (16-85% positive).

Non-hemolytic variants of *S. pyogenes* are well documented. The non-beta hemolytic varieties of *S. anginosus* group are found more commonly in human infections than the beta hemolytic strains. The non-beta hemolytic varieties of these species are also included in the viridans streptococci identification tables.

In all likelihood beta-hemolytic varieties of the *S. anginosus* group (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*) can be found in human infections.

- Importancia para detectar cambios en su distribución geográfica y temporal y para el diseño de vacunas.
- **Tipificación → Proteína M**: determinante principal de virulencia
N-terminal hipervariable → especificidad de serotipo
- Actualmente, el método patrón de oro es la secuenciación del gen emm (180 pb)
- Protocolo internacional del CDC de Atlanta (<http://www.cdc.gov/streplab/protocols.html>)
- Más de 200 tipos emm, con >1200 formas alélicas distintas, conocidas como subtipos emm
- Herramienta adicional (**emm clustering**) → clasifica tipos M en clusters o clados: A-C, D y E, basándose en la relación genética entre secuencias de la proteína M y su actividad funcional



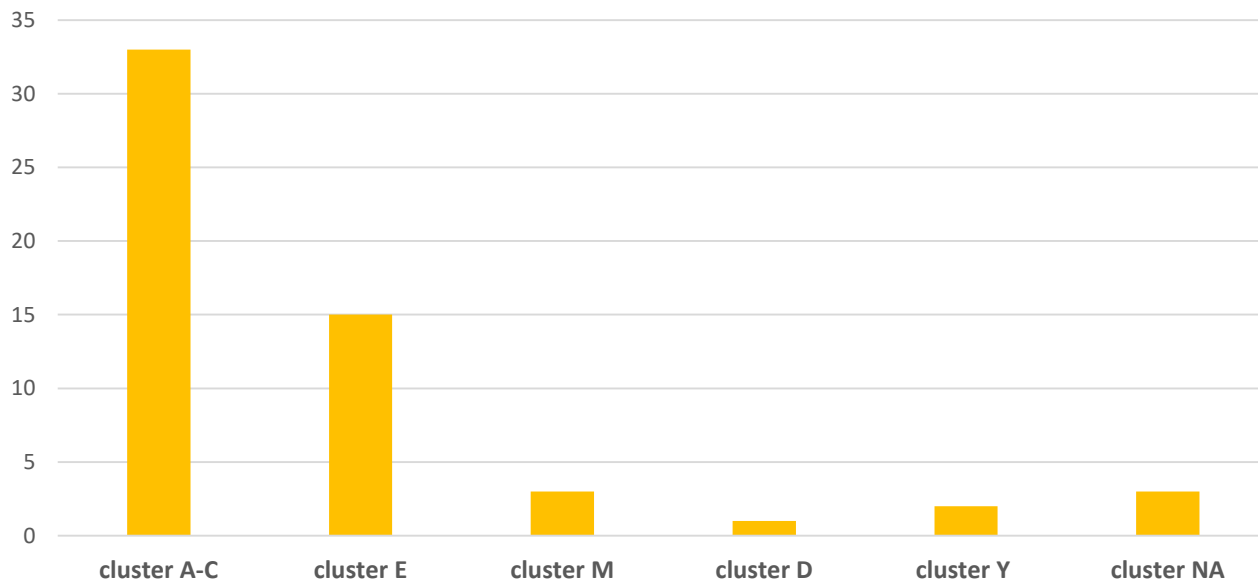
Predictivo de la epidemiología y del tropismo por tejidos:

Patrones A-C → faringitis

Patron D → infecciones de piel

Patron E → infecciones oro-faríngeas y de piel

Distribución de los aislamientos en *emm-clusters*



<i>emm</i> -types	<i>emm</i> -cluster
4, 60, 78, 165 (st11014), 176 (st213)	E1
13, 27, 50 (st62), 66, 68, 76, 90, 92, 96, 104, 106, 110, 117, 166 (st1207), 168 (st1389)	E2
9, 15, 25, 44 (st4/61), 49, 58, 79, 82, 87, 103, 107, 113, 118, 144 (stknb1), 180 (st2460), 183 (st2904), 209 (st6735), 219 (st9505), 231 (stNS292)	E3
2, 8, 22, 28, 73, 77, 84, 88, 89, 102, 109, 112, 114, 124, 169 (st1731), 175 (st212), 232 (stNS554)	E4
34, 51, 134 (st2105), 137 (st465), 170 (st1815), 174 (st211), 205 (st5282)	E5
11, 42, 48, 59, 63, 65 (st5/59), 67, 75, 81, 85, 94, 99, 139 (st7323), 158 (stxh1), 172 (st2037), 177 (st2147), 182 (st2861UK), 191 (st369)	E6
164 (st106M), 185 (st2917), 211 (st7406), 236 (st104)	Single protein <i>emm</i> -cluster clade X
36, 54, 207 (st6030)	D1
32, 71, 100, 115, 213 (st7700)	D2
123, 217 (st809)	D3
33, 41, 43, 52, 53, 56, 56.2 (st3850), 64, 70, 72, 80, 83, 86, 91, 93, 98, 101, 108, 116, 119, 120, 121, 178 (st22), 186 (st2940), 192 (st3757), 194 (st38), 208 (st62), 223 (stD432), 224 (stD631), 225 (stD633), 230 (stNS1033), 242 (st2926)	D4
97, 157 (stn165), 184 (st2911)	D5
46, 142 (st818)	A-C1
30, 197 (st4119)	A-C2
1, 169 (st412), 227 (st1103), 238 (1-2), 239 (1-4)	A-C3
12, 30, 193 (st3765), 228 (st162), 229 (stmd216)	A-C4
3, 37, 133 (st1692)	A-C5
5, 6, 14, 17, 18, 19, 23, 24, 26, 29, 37, 38 (st8/40), 47, 57, 74, 105, 122, 140 (st7395), 179 (st221), 218 (st854), 233 (stNS90), 234 (stpa57)	Single protein <i>emm</i> -cluster clade Y
55, 95, 111, 215 (st804), 221 (stCK249), 222 (stCK401)	Single protein <i>emm</i> -cluster outlier

Epidemiology of *Streptococcus pyogenes*

Androulla Efstratiou, BSc, PhD¹ and Theresa Lamagni, BSc, MSc, PhD²

Created: February 10, 2016; Updated: April 3, 2017.

1980 → aumento de secuelas invasivas por *S. pyogenes* alrededor del mundo; con millones de muertes/año, asociado con clones virulentos específicos adaptados a mecanismos de defensa del huésped.

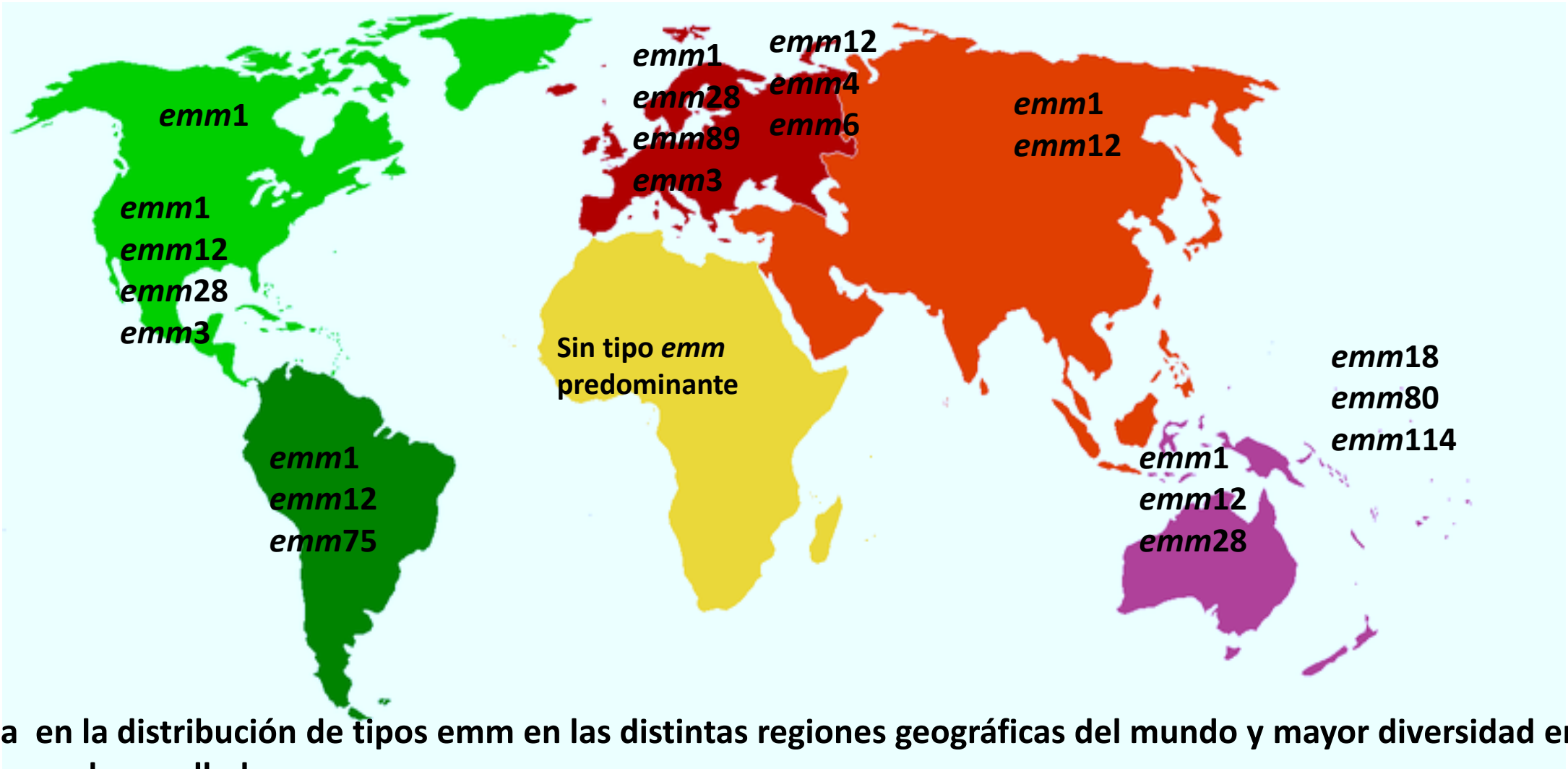
Prevalent *emm* Types among Invasive GAS in Europe and North America since Year 2000

Giovanni Gherardi^{1*}, Luca Agostino Vitali² and Roberta Creti³

¹Microbiology Unit, Department of Medicine, Campus Bio-Medico University, Rome, Italy, ²Microbiology Unit, School of Pharmacy, University of Camerino, Camerino, Italy, ³Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

2000-2017 → **emm1** es el tipo dominante en Europa y Norteamérica.
emm 28, 89, 3, 12, 4 y 6 representando el 70% de los aislamientos.

>**INCIDENCIA** → Primavera- verano. Hombres. Ancianos y niños. Sin factores de riesgo asociados.



Diferencia en la distribución de tipos emm en las distintas regiones geográficas del mundo y mayor diversidad en países menos desarrollados.

El tipo emm más común recuperado de enfermedad invasiva en países desarrollados es emm1, seguido de 3 y 6.

ARGENTINA

En nuestro país, la mayoría de los aislamientos corresponden a los tipos emm1 y emm3; que representan el 50% de las infecciones invasivas

*Six-Month Multicenter Study on Invasive Infections Due to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in Argentina*

Horacio A. Lopardo,^{1,} Patricia Vidal,¹ Monica Sparo,² Paola Jeric,³ Daniela Centron,³ Richard R. Facklam,⁴ Hugo Paganini,⁵ N. Gaston Pagniez,⁶ Marguerite Lovgren,⁷ Bernard Beall,⁴ and the Argentinian Streptococcus Study Group[†]*

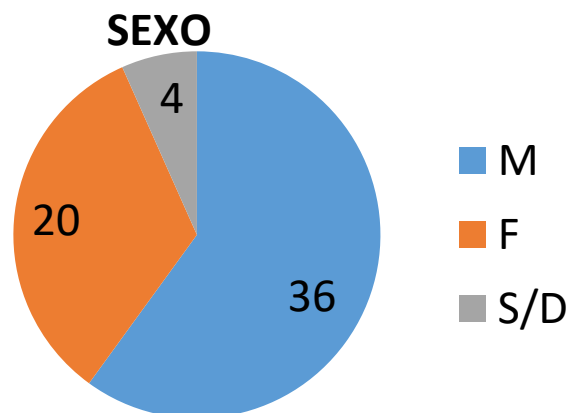
Estudio multicéntrico de seis meses, de enfermedades invasivas por *S. pyogenes* en 40 hospitales.

Pacientes: 22 adultos y 33 menores. Casos fatales: 4 niños y 6 adultos.

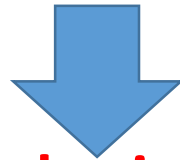
Ensayos fenotípicos, serología, métodos moleculares (gen emm, sof)

Los serotipos invasivos asociados fueron M 1, 3, 12, 28, con niveles de virulencia similares a los serotipos circulantes en EEUU y Canadá.

- **PERÍODO 2013-2018. N: 60 casos**
- **Ensayos fenotípicos y MALDI TOF**
- **TIPOS EMM PREDOMINANTES: 3, 1, 12**
- **DISTRIBUCION EN CLADOS: A-C, E, otros minoritarios (M,D) y N/A**
- **ORIGEN: piel y partes blandas (10), líquidos estériles (39), abscesos(4), fauces (3), fascitis necrotizante (4).**
- **Asociados a sepsis, neumonías, meningitis**



- **16 aislamientos:** 13 de Neuquén, 1 Río Negro, 1 CABA y 1 BsAs
- 15 hombres con edades 11 meses-77 años, la mayoría sin comorbilidades. 5 óbitos.
- Cuadros: celulitis (3), neumonía (4), sepsis (6), fascitis necrotizante (1), sin datos (2)
- Subtipificación → 12/16 tipo **emm3 Cluster AC-5** y los restantes no relacionados.
- Perfil sensibilidad: método de difusión y VITEK2
- Tipificación molecular: PFGE. Smal.
- Los 12 aislamientos tipo emm3 cluster AC5 fueron agrupados en el mismo tipo clonal y los otros cuatro de distinto tipo emm, no se encontraron genéticamente relacionados.



- **Confirmación de Brote y aviso de situación a la Red Nacional de MENINGITIS**
- **Medidas de Alerta y control**

CONCLUSIONES

- ✓ *S. pyogenes* es una de los principales patógenos humanos que causa una gran diversidad de enfermedades y algunas con una alta mortalidad.
- ✓ La población humana es el único reservorio natural conocido para *S. pyogenes*, por lo que una vacuna humana permitiría reducir la carga de la enfermedad, e incluso erradicarla.
- ✓ La discriminación del tipo M es fundamental para comprender la epidemiología, la biología y la estructura genética de la especie.
- ✓ En nuestro país hay una gran diversidad de tipos emm pero con mayor proporción de emm1 y emm3
- ✓ Ante un aumento en el número de casos, sospecha de brote -> estudio epidemiológico -> implementación de medidas de control y alertas
- ✓ Un resurgimiento de la enfermedad, junto con la falta de una vacuna autorizada y la preocupación constante por la adquisición de resistencia a la penicilina, destacan la importancia de fortalecer la vigilancia mundial de este patógeno.



736973049