

FACTORI DE PATOGENITATE ȘI VIRULENȚĂ LA STREPTOCOCII NON-GRUPABILI (STREPTOCOCI VIRIDANS)

Dr. Maria Nica, Dr. Tatiana Biolan, Dr. Elena Mozeș, Dr. R. Cigoianu-Onu,
Prof. Dr. Emil Ceaușu, Conf. Dr. Petre Calistru
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. V. Babeș” – București

REZUMAT

Streptococii non-grupabili sunt o specie care face parte din genul *Streptococcus*, familia *Streptococcaceae*. Sunt așa-numiții streptococi „orali”, lipsiți de antigene de grup. În cadrul acestei specii se disting așa-numiții „mutant-like” (*Str. mutans*, *Str. oralis*, *Str. pneumoniae*, *Str. sanguis*, *Str. mitis*, *Str. milleri* etc.). Streptococii non-grupabili fac parte din flora normală a cavității bucale, dar există și în flora normală a intestinului, pielii, căilor genitale. Ei pot interveni în patologia umană cauzând conjunctivite, infecții ORL, patologii dentară, infecții de tract respirator superior și inferior, bacteriemii, endocardite, infecții ale SNC, infecții osteoarticulare, peritonite, pleurezii, septicemii. De exemplu: *Str. milleri* se întâlnește în abcese, peritonite, pleurezii purulente, plăgi abdominale; *Str. mutans* e principalul agent cauzal al formării plăcii dentare etc. Scopul prezenței lucrării este de a atenționa asupra existenței factorilor de patogenitate și virulență la Streptococii viridans: proteine structurale, enzime, care sunt localizate în capsulă, perete celular, membrana citoplasmatică și citoplasma, cu proprietăți antigenice. Receptorii prezenți în peretele bacterian se leagă specific de proteinele plasmatice și tisulare umane și animale. Proteinele de suprafață (la streptococii cariogeni) pot juca un rol important în formarea plăcii dentare, prin hipersecreție de dextrani. Pe baza secvențierii 16S r ARN, *Str. pneumoniae*, *Str. mitis*, *Str. oralis* prezintă o similitudine de structură de 99%. *Str. pneumoniae* și *Str. mitis* prezintă factori majori comuni de virulență codificați genetic (hemolizina și autolizina). În circumstanțe particulare, această flora poate deveni patogenă. În cazul altor streptococi (ex. *Str. mutans*, *sanguis*), rata mare de infectivitate e dată de producerea de mari cantități de dextran (implicat în patogenia endocarditei și responsabili de rezistența la antibiotice).

Cuvinte cheie: streptococi non-grupabili, oportunist bacterian, patogenitate, taxonomie moleculară

ABSTRACT

Unclassified streptococci are included in the *Streptococcus* genre of the *Streptococcaceae* family. They are oral streptococci and they do not have group antigens. Mutant-like streptococci, such as *Str. mutans*, *Str. oralis*, *Str. pneumoniae*, *Str. sanguis*, *Str. mitis*, *Str. milleri* are part of this category. Unclassified streptococci are normally found in the oral cavity but also in the intestine, genital tract and on the skin. They may cause conjunctivitis, ORL and dental pathology, infections of the respiratory tract, bacteremia, endocarditis, infections of the central nervous system, bone and / or joints, peritonitis, pleurisy, sepsis. For example, *Str. milleri* can be found in abscesses, peritonitis, purulent pleurisy, abdominal wounds, while *Str. mutans* is the most important factor in the genesis of the plate. The purpose of this article is to draw attention to the pathogenetic and virulence factors in viridans streptococci: structural proteins and enzymes which are located in the capsula, cellular wall, cytoplasm and cytoplasmic membrane, having antigenic properties. The receptors of the bacterian wall are specifically bound to serum and tisular proteins in humans and in animals. Surface proteins (in cariogenic strepto-cocci) may play an important role in the genesis of the plate by mean of dextran hypersecretion. By 16S r ARN sequences a structure similarity of 99% between *Str. pneumoniae* and *Str. oralis* had been found. In *Str. pneumoniae* and *Str. mitis*, there are common major virulence factors, genetically coded, named hemolysin and autolysin. In particular circumstances, these germs may become aggressive. Other streptococci, such as *Str. mutans*, *Str. sanguis*, produce high quantity of dextrane which is responsible of high rate of infectivity in endocarditis and also of antibiotal resistance.

Key words: unclassified streptococci, bacterial opportunism, pathogenetic factors, molecular taxonomy

Familia *Streptococcaceae* este compusă din multe genuri bacteriene: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*. Această clasificare este bazată pe criterii de taxonomie moleculară (hibridizarea acizilor nucleici, procen-tajul conținutului în G + C, compoziția în lipide) și pe criterii bacteriologice (capacitatea de hemoliză a eritrocitelor, prezența sau nu a antigenelor poliozidice specifice sau a acidului lipo-teichoic și a reacțiilor biochimice ce

permit individualizarea diferitelor specii: Str. grup A – L, Str. non- grupabili, Enterococi).

O clasificare bazată pe criterii de patogenitate nu a fost posibilă, deoarece, pe de o parte, aceeași specie poate da aspecte clinice diferite, și, pe de alta, același aspect clinic poate fi dat de specii diferite.

Cu excepția Str. de grup A, toate celelalte specii aparțin florei comensale umane sau animale (rino-faringe, piele, intestine etc). În circumstanțe particulare, această floră poate deveni patogenă.

Pe baza studiilor de taxonomie moleculară, streptococii sunt divizați în **streptococi piogeni** (gr. A, C, G, L), streptococi de grup B (*Str. agalactiae*), grup D și streptococi orali (cunoscuți sub denumirea de streptococi non-grupabili sau viridans). Enterococii formează un gen distinct.

În interiorul grupului de streptococi non-grupabili, anumite specii au fost încadrate cu denumirea de „mutans-like”: *S. mutans*, *S. rattus*, *S. sobrinus*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*, *S. sanguis*,

S. mitis, *S. salivarius*, *S. milleri* etc. Streptococii deficienți (pretențioși nutritiv) se disting printr-o serie de reacții biochimice și prin proteinele lor de legare la penicilină (PLP).(2,5,7,8,9,10)

Antigene celulare

Celulele bacteriene sunt compuse din substanțe biologice active localizate în diferite structuri și, mai ales, în peretele celular. Majoritatea acestor substanțe sunt antigenice și unele sunt specifice pentru fiecare grup streptococic. (6,11)

Localizare	Natura chimică	Denumirea	Grup sau specie	Antigenicitate	Specificitate
CAPSULA	Acid hialuronic	A,C	–	nu	–
	dextran	–	<i>S. bovis</i>	+	tip
	poliozid	–	<i>S.pneumoniae</i>	+	tip
	poliozid	substanța S	Str. gr.B	+	tip
PERETE CELULAR	proteică	antigen M	Gr. A,C,G <i>S.pneumoniae</i>	+	tip nu
	proteică	antigen T	Gr. A,C,G	+	Tip epidemiologic
	proteică	antigen R3	Gr. A	+	nu
	proteică	antigen R 28	Gr. A,B,C,G, <i>S.pneumoniae</i>	+	nu
	proteică	antigen X	Gr.B	+	nu
	poliozid	antigen C	Gr. A- U(fara D), <i>E.faecalis</i> , <i>S.</i> <i>mutans</i>	+	grup tip tip
	peptidoglican	mucopeptid	procariote	+	nu
Poliglicero- phosphat	acid teichoic	Gr. D, N Enterococi	+	grup	
Membrana cito- plasmatică	lipoproteine	–	S.grupabili, S. non-grupabili	+	nu
Citoplasma	nucleoproteine	antigen P	S. grupabili, S.non-grupabili	+	nu

Rolul patogen al diferitelor specii aparținând familiei *Streptococcaceae* în patologia umană

SINDROM	AGENT RESPONSABIL *)
Angina eritematoasă	Str. gr. A,C,G,B
Scarlatină	Str. gr. A
Otită medie, mastoidită	<i>Str. pneumoniae</i> , str. Gr. A,B
Sinuzită	<i>Str. pneumoniae</i> , Str. Gr. A,B
Conjunctivite	<i>Str. pneumoniae</i>
Conjunctivite (nou-născut)	Str. non-grupabili(viridans)
Pneumonii și septicemii la nou-născut	Str. gr.B,G,A,C, non-grupabili, <i>Str. bovis</i> , <i>Str. pneumoniae</i>
Pneumonii (aduți)	<i>Str. pneumoniae</i> , Str. gr.C,A,B
Abces pulmonar	<i>Str. milleri</i> , Str.gr.C, <i>Str. pneumoniae</i>
Bronhopneumopatie cronică	<i>Str. pneumoniae</i> , Str.gr.B
Meningite la nou-născuți	Str.gr.B, Str. non-grupabili, <i>Str. pneumoniae</i> , <i>Str. bovis</i>
Meningite copii, aduți	<i>Str. pneumoniae</i> , <i>Str. suis</i> , Str.gr.B,C, <i>Str. bovis</i>
Abces cerebral	<i>Str. milleri</i>
Erizipel	Str.gr.A
Impetigo	Str.gr.A,G,B
Celulită	Str.gr.A,C,G,B, <i>Str.pneumoniae</i>
Fasciita necrozantă	Str.gr. A,C,G
Osteomielită și artrită nou-născut	Str. gr.B, A, <i>Str. pneumoniae</i>
Osteomielita aduți	Str.gr. A,C, B, <i>Str. pneumoniae</i>
Artrită copii	Str.gr. A, <i>Str. pneumoniae</i>
Artrită aduți	Str. gr. G,B, <i>Str. pneumoniae</i>
Infecții urinare	<i>Enterococcus spp</i> , <i>Aerococcus viridans</i> , Str. gr. B
Uretrite, vaginite, endometrite	Str. gr. B
Endocardite acute	Str. gr. A, B, C, G, <i>Str. pneumoniae</i>
Endocardite subacute	Str. non -grupabili, Str. deficientei, <i>Str. bo vis</i> , enterococi, <i>Gemella haemolysans</i> , <i>Aerococcus viridans</i>
Septicemie (aduți)	Str. gr. A, B, C, G, <i>Str. pneumoniae</i> ,
Bacteriemie (copii)	<i>Str. pneumoniae</i> , Str. gr. B,G....
Peritonite	<i>Str. pneumoniae</i> , <i>Str. milleri</i> , Str. gr. G,B
Patologie dentară	<i>Str. mutans</i> , <i>Str. milleri</i> , <i>Str. sanguis</i>

*) Agenții responsabili sunt citați în ordinea frecvenței izolării

STREPTOCOCII NON-GRUPABILI (SNG)

Sunt cunoscuți sub numele de Streptococi viridans, lipsiți de antigene de grup sau Streptococi orali. Ultima denumire este foarte logică, deoarece acești streptococi fac parte din flora normală a cavității bucale. Reprezintă 30%-60% din populația bacteriană existentă pe suprafața dinților, limbii, în salivă.

SNG aparțin, de asemenea, florei normale a intestinului, pielii, căilor genitale.

Dintre aceștia, *Str. mutans*, *Str. sanguis*, *Str. milleri* joacă un rol etiologic predominant în formarea cariilor dentare și a paradontopatiilor.

SNG se întâlnesc cu o frecvență crescută, ca agenți etiologici ai endocarditelor subacute.

A fost descrisă o creștere semnificativă a cazurilor de septicemii, meningite, conjunctivite neo-natale determinate de diferiți SNG (*Str. mitis*, *Str. milleri*, *Str. sanguis*) Acești streptococi sunt, de asemenea, izolați în caz de septicemie la pacienți imuno-deprimați.

Rareori, SNG sunt semnalati ca agenți etiologici ai meningitelor purulente, ca și complicații neurologice ale endocarditei bacteriene.

Str. milleri este un agent patogen frecvent întâlnit singur sau în asociere cu bacterii anaerobe în diverse supurații ca: abcese cerebrale, hepatice, pulmonare, dentare, apendiculare, cutanate, subcutanate, peritonite, pleurezii purulente, plăgi abdominale.

MECANISMUL DE ADERENȚĂ AL STREPTOCOCILOR (1)

- ***Streptococcus mutans***: este recunoscut ca un principal agent cauzal al formării plăcii dentare (27), ea însăși stând la originea formării cariilor dentare, a fenomenelor inflamatorii locale: periodontite, gingivite. De formarea plăcii dentare nu este responsabil singur, ci există o populație bacteriană complexă, care include diverși streptococi: *S. mutans*, *S. mittis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*.

- Intervin numeroase interacțiuni: bacterie- smalț dentar, bacterie- mucoasă, bacterii-bacterii omoloage, bacterii-bacterii heteroloage (coagregate inter-bacteriene), bacterii-substanțe extracelulare.
- În prezența zaharozei, *Str. mutans* sintetizează polizaharizi extracelulari, de tip glucan și fructan. Aceștia se fixează de celulele bacteriene cu ajutorul unor proteine specifice de fixare a glucanilor (GBP). Această proprietate antrenează agregarea bacteriană. *Str. mutans* se poate fixa direct pe emailul dentar sau pe glucanii deja asociați cu hidroxiapatita, cu ajutorul GBP. În plus, aceasta specie aderă la proteinele organismului la fel ca fibronectina, aglutininele salivare, B2 microglobulinele.
- *Str. sanguis* poate adera direct la suprafața dinților, ca și *Str. mutans*, dar posedă și fibrile capabile a se cupla cu aglutinine salivare, ele însele fixate pe placa dentară.
- *Str. mutans*, *Str. sanguis*, *Str. salivarius*, *Str. mitis*, *Str. milleri* sunt, cu certitudine, responsabili de producerea endocarditelor infecțioase, prin colonizarea vegetațiilor constituite din fibrină și trombocite, formate la nivelul endoteliului cardiac.
- Colonizarea vegetațiilor este consecutivă aderenței bacteriilor la țesutul lezat. Bacteriile responsabile de producerea endocarditelor prezintă o capacitate de aderență la țesutul valvular și endocard, superioară altor bacterii: existența unei interacțiuni bacterie-glucan-endoteliu valvular, capacitatea de aderare la agregatele plachetare.

Receptori de proteine plasmatică și tisulare (1)

Acești receptori, în număr de 20, sunt un mozaic de molecule proteice și excelenți markeri epidemiologici ce tapisează peretele numeroaselor specii: *Str. pyogenes*, *Str. agalactiae* (*gr.B*), *Str. disgalactiae*, *Str. zooepidemicus*, *Str. anginosus*, *Str. sanguis*, *Str. gordonii*, etc.

Ei au proprietatea de a se lega specific de numeroase proteine plasmatică (IgA, Ig G, fibrinogen, haptoglobine, albumine, α -2-microglobuline, β -2-microglobuline, plasminogen) și tisulare (fibronectina, collagen, laminina, vitronectina) umane și animale.

Proteine de suprafață la Streptococii cariogeni

Proteinele de perete sunt prezente la *Str. mutans* (agentul etiologic major al cariei dentare), *Str. sobrinus*, *Str. sanguis*, *Str. mutans*. *Str. mutans* prezintă la suprafața sa un mozaic de cel puțin 10 proteine și glicoproteine de perete (o parte din ele

implicate în cariogeneză). Ele imprimă capacitatea bacteriilor de a coloniza emailul dentar, de a sintetiza glucani (dextrani) insolubili care formează matricea extrabacteriană a plăcii dentare și acidifierea locală a mediului (prin fermentarea glucidelor).

Proteinele de perete ale *Str. mutans* includ și **glucoziltransferaza (GTF)**, **fructoziltransferaza (FTF)**, **adezine P1**, **proteine de legare a glucanilor (GBP)**. **GTF** și **FTF** sunt enzime implicate în sinteza glucanilor și fructanilor, pornind de la zaharoză, care joacă un rol major în formarea plăcii dentare.

Adezina P1 (antigen P I/II, B sau Pac) este o glicoproteină fibrilară (185 kDa) care interacționează cu o aglutinina salivară cu greutate moleculară mare și contribuie la agregarea și la aderența bacteriană la hidroxiapatita emailului dentar.

Proteina P1, identică cu glicoproteina de perete a *Str. mutans*, posedă epitopi comuni cu miozina mușchiului cardiac uman și cu antigenele de suprafață ale *Str. pyogenes* (proteina M și proteinele membranei citoplasmatică).

Cel puțin alte 8 proteine, identificate serologic, care tapisează peretele bacterian (**proteinele III, IV, A, C și D**) se regăsesc adesea în supernatantul culturilor.

Str. pneumoniae, un important patogen uman, se distinge față de speciile de *Str. mitis* și *Str. oralis* pe baza a 3 teste de diferențiere, caracteristice: sensibilitatea la optochin, solubilitate în bilă, aglutinare cu anticorpi antipolizaharid pneumococic. S-au izolat „pneumococi atipici”: rezistenți la optochin, testul solubilității în bila – negativ, necapsulați – deci nontipabili etc. (aprox. 2%). Pentru aceștia, țintele de diagnostic molecular le-au constituit 2 gene care codifică factori majori de virulență: pneumolizina (*ply*) și autolizina (*lyt A*).

Pe baza secvențierii 16S r RNA, se constată relația foarte apropiată, din punct de vedere structural, între *Str. mitis* și *Str. oralis*, cu *Str. pneumoniae*, între care există o similitudine de 99%.

Cele 2 specii erau considerate drept comensale ale organismului uman, dar, recent, a devenit clar faptul că se pot considera patogeni importanți. *S. mitis* și *s. oralis* sunt asociați cu endocarditele bacteriene, în special la bolnavii cu valve protetice. În plus, cei doi sunt recunoscuți că pot determina frecvente cauze de infecție la pacienții imunocompromiși, după transplant de țesuturi sau cancer cu neutropenie.

La tulpini care s-au diagnosticat fenotipic și genetic drept *S. mitis* s-au pus în evidență genele *ply* și *lytA* care codifica factori majori de patogenitate: hemolizina și autolizina, normal asociate doar pneumococilor. (12)

Aderenta microorganismelor la țesutul cardiac lezat este un eveniment crucial în patogeneza endocarditelor infecțioase. Un potențial factor de virulență asociat *S. parasanguis* implicat în etiologia endocarditelor este **FimA, o proteina de suprafață de 36-kDa**, recunoscută ca drept **adezina** în cavitatea orală. Acest factor determină infec-

tivitatea *Str. parasanguis*. Nu este implicat în aderența și agregativitatea plachetară.

Este un factor major de virulență, asociat *Str. parasanguis*, în endocarditele bacteriene, cu rol important în colonizarea inițială a țesutului cardiac lezat. (2)

Abilitatea streptococilor viridans de a adera la țesutul valvular lezat explică incidența crescută a endocarditelor. Producerea în cantități mari a **dextranului (glicocalix)**, de către *Str. mutans*, *Str. sanguis*, *Str. mitior* este corelată cu rata mare de infectare a vegetațiilor cardiace și cu rezistența la terapia antimicrobiană. (4).

BIBLIOGRAFIE

1. **Alouf, J., A., Horaud. T** – Streptococcus, Enterococcus și alte genuri apartenente. Unitatea de Toxine bacteriene și Laboratorul de Streptococi, Stafilococi, Institutul Pasteur, 1994, Paris.
2. **Bouvet A., Villeroy F., Cheng F. et.al.** – Characterization of nutritionally variant streptococci by biochemical tests and penicillin – binding proteins. *J. Clin. Microbiol.* 1985,22, 1030-1034.
3. **Burnette- Curley D, Wells V., Viscount H., Munro CL., Fenno JC. Fives – Taylor P., Macrina FL** – FimA, a major virulence factor associated with *Streptococcus parasanguis* endocarditis. *Infection and Immunity*, dec, 1995, vol 63, no 12.
4. **Dall L.H., Herndon B.L.** – Association of Cell – Adherent Glycocalix and Endocarditis Production by Viridans Group Streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, aug 1990, p. 1698- 1700.
5. **Ezaki T., Faklam R., Takeuchi N., Yabuuchi E** – Genetic relatedness between the type strain of *Streptococcus anginosus* and minute colony forming beta- hemolytic streptococci carrying different Lancefield grouping antigens j. syst. Bacteriol. 1986, 36, 345-347.
6. **Germaine G.R., Schachtele C.F.** – *Streptococcus mutans* dextran – sucrose: Mode of interaction with high – molecular – weight dextran and role in cellular aggregation. *Infect. Immun.* 1990, 13, 365-372.
7. **Horaud T.** – Streptococcaceae- Bacteriologie Medicale. *Flammarion Medicine Sciences*, Paris, 1982, 528-549.
8. **Kilpper – Balz, Wenzing P., Schleifer K.H** – Molecular relationship and classification of some viridans streptococci as *Streptococcus oralis* and emended description of *Streptococcus oralis*. *J. syst Bacteriol.* 1985, 35, 482-488.
9. **Kilpper – Balz R., Williams B.L., Lutticken R** – Relatedness of *Streptococcus milleri* with *Streptococcus anginosus* and *Streptococcus constellatus*. *System. Appl. Microbiol.* 1984. 5, 494-500.
10. **Schleiferi K.D., Kilpper – Balz R., Kraus J** – relatedness and classification of *Streptococcus mutans* and „mutans-like“ streptococci. *J. Dent. Res.* 1984, 63, 1047-1050.
11. **Vilde J.L., Regnier B., Vachon F** – Infection dues aux Streptocoques non-A Journee de L' Hopital Claude Bernard Paris, 1986.
12. **Whatmore A., Efstratiou A., Pickerill A.P., Broughton K., Woodard G., Sturgeon D., George R., Dowson C** – Genetic Relationship between Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis* and *Streptococcus mitis*: Characterization of „Atypical“ Pneumococci and Organisms Allied to *Str. mitis* Harboring *Str. pneumoniae* Virulence Factor – Encoding Genes. *Infection and immunity* March 2000, p 1374-1382, vol. 68, no3.