

# Caracterización de aislados invasivos de neumococo y mecanismos moleculares de patogenicidad

Asunción Fenoll y José Yuste

Laboratorio de Referencia de Neumococos. Servicio de Bacteriología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid

[afenoll@isciii.es](mailto:afenoll@isciii.es)

[jyuste@isciii.es](mailto:jyuste@isciii.es)



**Foto de grupo.** De izquierda a derecha: Marisol Escolano, José Yuste, Asunción Fenoll, Bruno Corsini, María Dolores Vicioso, Leire Aguinagalde, Isabel Hernández.

**E**l Laboratorio de Referencia de Neumococos (LRN) se dedica desde el año 1979 a la vigilancia microbiológica de *Streptococcus pneumoniae* (serotipos y resistencia antibiótica) de los aislados clínicos de neumococo que se reciben en el laboratorio, procedentes de hospitales de las distintas comunidades autónomas. En este sentido, nuestro laboratorio fue pionero identificando el primer aislado de neumococo resistente a penicilina en España en el año 1982. Desde entonces, se han identificado y caracterizado cerca de 80.000 aislados clínicos invasivos de neumococo que están disponibles en nuestra amplia colección de cepas. Con el fin de buscar nuevas estrategias terapéuticas que pudieran combatir el grave problema de la resistencia antibiótica, se inició una línea de investigación basada

en la acción combinada de diferentes antimicrobianos y anticuerpos específicos, demostrando la existencia de un sinérgismo entre determinados antibióticos y el sistema inmune mediado por la presencia de anticuerpos frente a neumococo. A partir del año 2010, con la incorporación del Dr. José Yuste, se ampliaron las líneas de trabajo del laboratorio con especial interés en la identificación y caracterización de diferentes factores de virulencia de neumococo, analizando diversos mecanismos de evasión de la respuesta inmune del hospedador. El LRN está formado por dos facultativos que son la Dra. Asunción Fenoll que es la responsable del laboratorio de referencia y se encarga de la parte diagnóstica y epidemiológica y por el Dr. José Yuste que es el responsable de la unidad de investigación.

El resto de integrantes del laboratorio son tres titulados superiores que están realizando su tesis doctoral (Leire Aguinagalde, Bruno Corsini y Marisol Escolano) y dos técnicos de laboratorio (María Dolores Vicioso e Isabel Hernández). A continuación se exponen las principales líneas de investigación del laboratorio.

## BASES MOLECULARES DE LA VIRULENCIA DE NEUMOCOCO

*Streptococcus pneumoniae* es el principal agente etiológico de las neumonías adquiridas en la comunidad y uno de los principales responsables de sepsis y meningitis bacteriana no epidémica afectando principalmente a la población pediátrica y a los adultos mayores de 65 años. Aunque la cápsula polisacárida de neumococo es el principal factor de virulencia, existen numerosas proteínas, muchas de ellas de función desconocida, que también participan en el establecimiento de la enfermedad invasiva. Uno de los principales objetivos del laboratorio, consiste en estudiar diferentes mecanismos moleculares implicados en diversas fases del proceso infeccioso como son la colonización del tracto respiratorio superior, la neumonía y la sepsis. Para ello, se utilizan mutantes de diferentes cepas con el fin de evaluar su capacidad para colonizar e invadir el hospedador utilizando líneas celulares epiteliales humanas. Otro aspecto que estudia el grupo, consiste en evaluar la capacidad de evasión de la respuesta inmune del hospedador, analizando la evasión de la inmunidad mediada por el sistema del complemento así como la fagocitosis por neutrófilos polimorfonucleares humanos y macrófagos utilizando diferentes líneas celulares. Para poder abordar estos estudios se utiliza la citometría de flujo y la microscopía confocal como principales técnicas metodológicas. Esta línea de investigación se realiza en colaboración con los Dres. Ernesto García y Pedro García del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, con el Dr. Javier Galiano del ISCIII y con el Dr. Jeremy S Brown de University College en Londres.

## BÚSQUEDA DE ANTÍGENOS PROTEICOS COMO POSIBLES CANDIDATOS A NUEVAS VACUNAS ANTINEUMOCÓCICAS

El desarrollo, comercialización y administración tanto de las vacunas polisacáridas de neumococo como de las vacunas conjugadas proporcionan un beneficio significativo en la lucha frente a la enfermedad neumocócica invasiva. Sin embargo, estas vacunas proporcionan una cobertura limitada ya que tan sólo confieren protección frente a unos determinados serotipos. Por ello, la identificación y caracterización de diferentes proteínas de neumococo que estén presentes en todos los aislados clínicos, como posibles candidatas a una vacuna universal proteica, sería de gran relevancia y repercusión en salud pública para combatir la elevada morbilidad y mortalidad producida por este importante patógeno humano. En nuestro grupo, estamos estudiando el papel protector de un grupo de proteínas que pertenecen a la familia de las proteínas de unión a colina y dentro de éstas, a las hidrolasas de pared celular

de neumococo en colaboración con el grupo del CIB-CSIC mencionado anteriormente.

## IMPORTANCIA DE LA EXPOSICIÓN AL HUMO DE TABACO EN LA PERSISTENCIA PULMONAR PRODUCIDA POR AISLADOS CLÍNICOS DE NEUMOCOCO PROCEDENTES DE PACIENTES CON EPOC

Como ya se ha comentado anteriormente, *S. pneumoniae* es la principal causa de neumonías adquiridas en la comunidad tanto en adultos como en niños. Recientemente se ha descrito que un grupo reducido de aislados de neumococo pertenecientes a serotipos muy concretos, están frecuentemente asociados a episodios de exacerbaciones agudas en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), siendo el tabaco un factor de riesgo para esta enfermedad. El principal objetivo de esta línea se basa en caracterizar posibles factores de virulencia de la bacteria implicados en este fenotipo persistente que origina neumonías recurrentes en estos pacientes. Desde la perspectiva del hospedador, otro de los objetivos de esta línea de trabajo, consiste en caracterizar el papel que tiene la exposición de diferentes células del hospedador al humo de tabaco y cómo afecta al fenotipo de persistencia de los distintos aislados clínicos. Esta línea se desarrolla en colaboración con las Dras. Josefina Liñares y Carmen Ardanuy del Hospital de Bellvitge.

## BIBLIOGRAFÍA

- Martín-Galiano AJ, Yuste J, Cercenado MI, de la Campa AG. (2014). Inspecting the potential physiological and biomedical value of 44 conserved uncharacterised proteins of *Streptococcus pneumoniae*. BMC Genomics.15:652.
- Domenech M, Ramos-Sevillano E, García E, Moscoso M, Yuste J. (2013). Biofilm formation avoids complement immunity and phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. Infect Immun. 81:2606-15.
- Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Cafini F, Giménez MJ, Navarro A, Sevillano D, Alou L, García E, Aguilar L, Yuste J. (2012). Cefditoren and ceftriaxone enhance complement-mediated immunity in the presence of specific antibodies against antibiotic-resistant pneumococcal strains. PLoS One. 7:e44135.
- Fenoll A, Aguilar L, Giménez MJ, Vicioso MD, Robledo O, Granizo JJ, Coronel P. (2012). Comparative in vitro activity of common antibiotics and relationship with changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing otitis in children prior to and 10 years after introduction of conjugate vaccines in Spain. Int J Antimicrob Agents. 40:376-7.
- Fenoll A, Aguilar L, Giménez MJ, Vicioso MD, Robledo O, Granizo JJ, Coronel P. (2012). Variations in serotypes and susceptibility of adult non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates between the periods before (May 2000-May 2001) and 10 years after (May 2010-May 2011) introduction of conjugate vaccines for child immunisation in Spain. Int J Antimicrob Agents. 40:18-23.
- Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Díez-Martínez R, Giménez MJ, Olmedillas E, García P, García E, Aguilar L, Yuste J. (2012). Macrolides and  $\beta$ -lactam antibiotics enhance C3b deposition on the surface of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains by a LytA autolysin-dependent mechanism. Antimicrob Agents Chemother.;56:5534-40.
- Ramos-Sevillano E, Moscoso M, García P, García E, Yuste J. (2011). Nasopharyngeal colonization and invasive disease are enhanced by

- the cell wall hydrolases LytB and LytC of *Streptococcus pneumoniae*. PLoS One. 6:e23626.
- Fenoll A, Aguilar L, Vicioso MD, Gimenez MJ, Robledo O, Granizo JJ.** (2011). Increase in serotype 19A prevalence and amoxicillin non-susceptibility among paediatric *Streptococcus pneumoniae* isolates from middle ear fluid in a passive laboratory-based surveillance in Spain, 1997-2009. BMC Infect Dis. 11:239.
- Tarragó D, Aguilar L, García R, Gimenez MJ, Granizo JJ, Fenoll A.** (2011). Evolution of clonal and susceptibility profiles of serotype 19A *Streptococcus pneumoniae* among invasive isolates from children in Spain, 1990 to 2008. Antimicrob Agents Chemother. 55:2297-302.
- Cafini F, Yuste J, Giménez MJ, Sevillano D, Aguilar L, Alou L, Ramos-Sevillano E, Torrico M, González N, García E, Coronel P, Prieto J.** (2010). Enhanced in vivo activity of cefditoren in pre-immunized mice against penicillin-resistant *S. pneumoniae* (serotypes 6B, 19F and 23F) in a sepsis model. PLoS One. 5:e12041.
- Campuzano S, de Ávila BE, Yuste J, Pedrero M, García JL, García P, García E, Pingarrón JM.** (2010). Disposable amperometric magnet-immunosensors for the specific detection of *Streptococcus pneumoniae*. Biosens Bioelectron. 26:1225-30.
- Yuste J, Sen A, Truedsson L, Jönsson G, Hyams C, Cohen JM, Camberlein E, Sriskandan S, Brown JS.** (2010). Impaired opsonization with complement and phagocytosis of *Streptococcus pyogenes* in sera from subjects with inherited C2 deficiency. Microbes Infect. 12:626-34.
- Yuste J, Khandavilli S, Ansari N, Muttardi K, Ismail L, Hyams C, Weiser J, Mitchell T, Brown JS.** (2010). The effects of PspC on complement-mediated immunity to *Streptococcus pneumoniae* vary with strain background and capsular serotype. Infect Immun. 78:283-92.
- Fenoll A, Granizo JJ, Aguilar L, Giménez MJ, Aragonese-Fenoll L, Hanquet G, Casal J, Tarragó D.** (2009). Temporal trends of invasive *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antimicrobial resistance patterns in Spain from 1979 to 2007. J Clin Microbiol. 47:1012-20.

# Biología de patógenos bacterianos intracelulares

María Graciela Pucciarelli y Francisco García del Portillo

Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» Universidad Autónoma de Madrid  
y Centro Nacional de Biotecnología-CSIC

mg.pucciarelli@uam.es

fgportillo@cnb.csic.es



**Foto de grupo.** De izquierda a derecha. M. Graciela Pucciarelli, Francisco García del Portillo, Pablo García, Estel Ramos, Diana Barroso, Gadea Rico, Daniela Gargano y Noelia López.