

Caracterización molecular de caso fatal por *Streptococcus pyogenes*

Molecular characterization of fatal cases by *Streptococcus pyogenes*

Dr. Fernando Galeano¹, Biol. Gabriela Sanabria¹, Dra. Dolores Lovera¹, Dra. Bq. Patricia Araújo¹, Dr. Bq. Juan D. Irala J¹, Dra. Rosa Guillén², Dra. F. Rodríguez², Prof. Dr. Antonio Arbo¹. ¹Instituto de Medicina Tropical – ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud (ICCS)

Streptococcus pyogenes es ampliamente conocido como uno de los patógenos bacterianos más importantes en seres humanos. Este caso reporta a una paciente femenina de 3 años de edad, procedente de Lambaré, sin patología de base conocida, consultó en el Servicio de Urgencias del Instituto de Medicina Tropical por una lesión en cara externa de pierna derecha de 3 días de evolución que se extendió progresivamente, agregándose tumefacción y flictenas violáceas. Además vómitos 24 hs antes del ingreso en varias ocasiones. La paciente presentó cultivo de lesión por punción infiltrativa de zona afecta del miembro inferior derecho positivo a *Streptococcus pyogenes* multisensible que fue derivado al Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud para caracterización molecular en el que se detectó la portación de los factores de virulencia *speA*, *speB* y *speC*.

Palabras claves: *Streptococcus pyogenes*, factores de virulencia, choque séptico

Abstract

Streptococcus pyogenes is widely known as one of the most important bacterial pathogens in humans.

This case report of a female patient age 3, from Lambaré, no known pathology base, consulted in the emergency

department of the Institute of Tropical Medicine with an injured right leg outer face of 3 days of evolution that progressively expanded, adding purple swelling and blisters. In addition vomiting 24 hours before admission several times. The patient developed culture of lesion

infiltration puncture affected area of the right leg positive for Streptococcus pyogenes multisusceptible which was referred to the Department of Molecular Biology and Biotechnology Research Institute in Health Sciences for molecular characterization in which the bearing was detected virulence factors speA, speB and speC.

Key words: *Streptococcus pyogenes, virulence factors, shock septic*

Introducción

Streptococcus pyogenes (estreptococco del grupo A de Lancefield), un coco Gram positivo aerobio, es uno de los patógenos bacterianos más importantes en seres humanos, agente causal más frecuente de faringitis agudas bacterianas, además infecciones cutáneas incluidas erisipela, impétigo, celulitis y cuadros sistémicos severos como fascitis necrosante, miositis y síndrome del shock tóxico. También puede desencadenar secuelas no supurativas como la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda postestreptocócica (1-4,6).

Este microorganismo es conocido por la gran cantidad de proteínas extracelulares que produce, factores de virulencia, que incrementan la patogenicidad del mismo, al desencadenar una respuesta inespecífica y exacerbada en el sistema inmunológico del paciente.

Estos factores de virulencia facilitan la colonización del microorganismo, la infección y la evasión de la respuesta inmune, permitiendo al microorganismo sobrevivir por más tiempo dentro del huésped. La presencia y diseminación de estos factores produjo, en las últimas décadas un resurgimiento a nivel mundial de casos de enfermedad invasora y

síndrome de shock tóxico estreptocócico (SSTE) (4,6).

Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas (*Spe*) constituyen una familia de superantígenos bacterianos, que se cree se asocian al SSTE, a la fascitis necrosante y a otras infecciones graves. Esta familia incluye la *SpeA* codificada por un bacteriófago ϕ y la *SpeC*, conocidas históricamente como las toxinas de la escarlatina, debido a su asociación con ésta, así como a la cisteína-proteasa *SpeB*, y otras muchas exotoxinas pirógenas; por ejemplo, el factor mitógeno (FM, *SpeF*) y el superantígeno estreptocócico (SSA) identificados recientemente (7,9).

Caso Clínico

Paciente pre-escolar femenino de 3 años de edad, procedente de Lambaré (Paraguay), no conocida portadora de patología de base, consulta en el Servicio de Urgencias del Instituto de Medicina Tropical por una lesión en cara externa de pierna derecha de 3 días de evolución que se extiende progresivamente, agregándose tumefacción y flictenas violáceas. Además vómitos 24 hs antes del ingreso en varias ocasiones.

Al ingreso se encuentra en mal estado general, afebril, con frecuencia cardiaca de 180 latidos por minuto, pulsos filiformes, frecuencia respiratoria de 29 por minuto, llenado capilar de 4 segundos e hipotensión arterial (77/40 milímetros de mercurio); además tendencia a la somnolencia. En el examen de los miembros inferiores presenta tumefacción eritematosa importante en cara externa de pierna derecha, con flictenas violáceas, que progresan con el correr de las horas.

El examen laboratorial revela leucocitosis con neutrofilia (recuento de glóbulos blancos: 24.800/mm³ (rango:

4.500-10.500 células/mm³), a predominio de granulocitos, con desviación a la izquierda. Proteína C reactiva positiva. Velocidad de sedimentación globular: 55 mm (rango hasta 20 mm).

Función renal alterada con creatininemia 2,2 mg/dL (rango: 0,24 - 0,87 mg/dL). Acidosis metabólica descompensada. Discrasia sanguínea con Tiempo de protrombina: 36 % (rango: 70-100 %), tiempo de tromboplastina parcial activada: 36 seg (25 - 45 segundos), fibrinogenemia normal. Hipoalbuminemia, con valor de: 2,85 g/dL (rango: 3,4 a 4,8 g/dL).

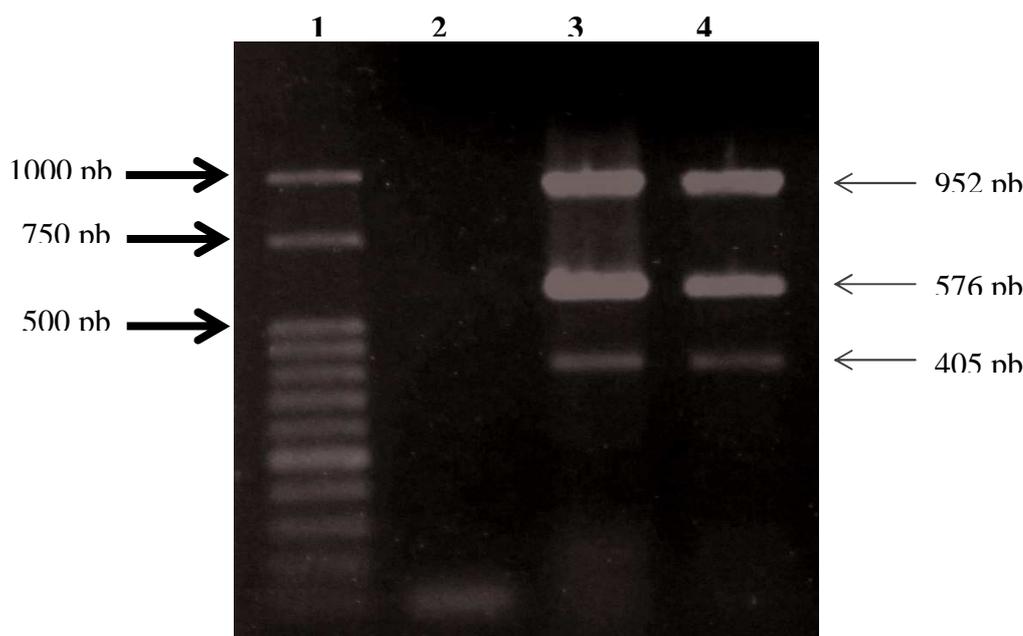
Electrolitos en rango normal. Ecocardiografía con fracción de eyección: 66 % y fracción de acortamiento: 35 %. Retornó cultivo de lesión de miembro inferior derecho por punción infiltrativa positivo a *Streptococcus pyogenes* multisensible y *Staphylococcus aureus* multisensible.

La paciente recibió expansiones con solución fisiológica hasta, con mala respuesta, antibióticos (ceftazidima (150 mg/kg/día) + vancomicina (60 mg/kg/día) + clindamicina (40 mg/kg/día), drogas vasoactivas (dopamina + noradrenalina + milrinona), hidrocortisona en contexto de choque séptico refractario a aminas e inmunoglobulina humana (400 mg/kg/dosis), con mala evolución, requerimiento de asistencia respiratoria mecánica, correcciones de medio interno. La paciente falleció a las 24 hs de su ingreso al hospital.

Caracterización molecular

El aislado de *Streptococcus pyogenes* multisensible fue derivado al Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud con el fin de caracterizarlo molecularmente (Figura 1). La extracción de ADN a partir del aislado se realizó por el método de ebullición.

Figura 1. Productos de amplificación de PCR para la detección de los genes speA, speB, speC.



Electroforesis gel de agarosa 2%, tinción con bromuro de etidio. Carriles: 1. Marcador de pesos moleculares 50pb (Embiotec, Argentina), 2. Control negativo de la reacción de PCR (agua tridestilada), 3. Cepa control *speA+* (576pb), *speB+* (952pb), *speC+* (405pb), 4. Aislado de *S. pyogenes* obtenido de la muestra proveniente de la paciente reportada en este caso.

Se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa para detección de genes codificantes de factores de virulencia *speA*, *speB* y *speC*, empleando oligonucleótidos específicos, así como condiciones de ciclado descritas por Boreck et al (2). Se emplearon controles negativos y positivos para la reacción de amplificación y se obtuvieron productos de amplificación específicos para cada gen con tamaños respectivos de 576 pb para *speA*, 952 pb para *speB* y 405 pb para *speC*.

En la muestra en estudio se detectó la portación de la totalidad de los factores de virulencia incluidos en este estudio (Figura 1), apuntando hacia la extremada virulencia de la cepa a pesar de su multisensibilidad.

Discusión

Varios factores se asocian con infecciones invasivas por *Streptococcus pyogenes* a infecciones invasivas GABHS, infecciones virales como varicela zoster e influenza, traumas, quemaduras y cirugías previas, inmunodeficiencia, neoplasia maligna, edad menor a 1 año, uso de antiinflamatorios no esteroideos (10,11). Nuestro paciente no poseía patología crónica conocida de base, ni había antecedente de cuadro viral previo.

La agresividad del *Streptococcus pyogenes* puede asociarse a la presencia de diversos factores de virulencia como la proteína M o el factor de opacidad (FO) del suero. Además la presencia de exotoxinas pirógenas estreptocócicas (Spe) se asocia al SSTE, a la fascitis necrosante y a otras infecciones graves (1,11). Es notable la presencia en el caso en cuestión la presencia de 3 de esas exotoxinas, la *SpeA*, *SpeB*, *SpeC*; factor involucrado probablemente en la agresividad y la tórpida evolución del cuadro.

El debridamiento quirúrgico constituye uno de los pilares del tratamiento de las infecciones musculares necrosantes por *Streptococcus pyogenes*; la rápida extensión del eritema en miembros inferiores y las lesiones flictenulares hablaban de una infección severa progresiva. El compromiso hemodinámico severo e irreversible de la paciente impidió el abordaje quirúrgico oportuno en este caso fatal.

Es además, un factor a tener en cuenta, el aislamiento simultáneo de *Staphylococcus aureus* multisensible de la misma muestra del sitio de lesión en miembro inferior. No se realizó la caracterización molecular de dicho germen, por lo que ignoramos la presencia en el mismo de factores de virulencia como la leucocidina de Panton Valentine (LPV). Puede verse la asociación de gérmenes en las fascitis necrosante (1).

Referencias bibliográficas

1. Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica. Séptima Edición. 2012 Elsevier España, S.L.198:2597-2611.
2. Borek, Anna L., et al. "Detection of *Streptococcus pyogenes* virulence factors by multiplex PCR." *Virulence* 3.6. 2012: 529-533.
3. Bourlon Cuellar, R. A., Bourlon de los Ríos, M. T., López Nuche, M., Bourlon de los Ríos, C., Vera Urquiza, R., Camacho, J. L., & Arcos Acosta, L. Síndrome de choque tóxico secundario a fascitis necrosante por *Streptococcus pyogenes*: informe de un caso clínico. *Medicina interna de México*, 2010, 26(4), 397-400.
4. Ferretti, Joseph J., et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98.8. 2001: 4658-4663.
5. Koneman, Elmer W., and Stephen Allen. Koneman. *Diagnostico Microbiologico* /

- Microbiological diagnosis: Texto y Atlas En Color/Text and Color Atlas. Ed. Médica Panamericana, 2008.
6. Kreikemeyer, Bernd, Kevin S. McIver, and Andreas Podbielski. Virulence factor regulation and regulatory networks in *Streptococcus pyogenes* and their impact on pathogen–host interactions. *Trends in microbiology* 11.5. 2003: 224-232.
 7. Traverso, F., Sparo, M., Rubio, V., Sáez-Nieto J.A. Caracterización molecular de *Streptococcus pyogenes* causantes de enfermedad invasora y síndrome de shock tóxico estreptocócico. *Revista argentina de microbiología* 42.1. 2010: 41-45.
 8. Baker M, Gutman DM, Papageorgiou AC, et al. Structural features of a zinc binding site in the superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin A (SpeA1): Implications for MHC class II recognition. *Protein Sci* 2001;10:1268-73.
 9. Bianco AI, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. *Lancet Infect Dis* 2003;3:191-200.
 10. Stevens D, Kaplan S. Group A streptococcal (*Streptococcus pyogenes*) bacteremia in children. UptoDate 2015.
 11. Zervas S, et al. *Streptococcus pyogenes* pyomyositis. *Pediatr Infect Dis J*, 2002;21:166–8.

Fecha de recepción: 10 de octubre de 2015

Fecha de aceptación: 16 de noviembre de 2015

Solicitud de Sobretiros:

Dr. Fernando Galeano

Servicio de Pediatría

Instituto de Medicina Tropical

fergaleano58@yahoo.com.ar