

## TEMAS DE ACTUALIDAD

### COMPOSICION ANTIGENICA DEL ESTREPTOCOCO $\beta$ HEMOLITICO

por el doctor

MANUEL R. MALINOW \*

La fiebre reumática es una enfermedad frecuente, grave y de etiología desconocida, aunque casi todos los hechos conocidos son compatibles con un origen infeccioso. De todos los gérmenes con que se la ha vinculado (virus<sup>1, 2</sup>, bacilo pleuroneumónico<sup>3, 4</sup>, etc.), el estreptococo  $\beta$  hemolítico es al que con mayor firmeza se relaciona por evidencias indirectas<sup>5-7</sup>, especialmente por la demostración del aumento de la frecuencia de aparición de fiebre reumática después de epidemias de tonsilitis agudas estreptocócicas<sup>8-14</sup>. Esta posible etiología reumática hace importante el estudio químico e inmunológico del estreptococo  $\beta$  hemolítico, para lo cual es conveniente conocer: 1° la composición antigénica del germen, 2° la respuesta inmunológica que su infección provoca y 3° las variaciones individuales de esta respuesta.

#### 1. *Composición antigénica del estreptococo.*

Existe una gran confusión en la clasificación de este germen, por cuya razón se describirán sólo los estreptococos patógenos para el hombre, y, dentro de este grupo, los relacionados con la fiebre reumática. Para ello es necesario distinguir los componentes endo de los exocelulares.

#### A) *Componentes endocelulares del estreptococo.*

a) Substancias hidrocarbonadas. Rebeca Lancefield, que tanto ha contribuido para el conocimiento del estreptococo, describió claramente los hidratos de carbono que se encuentran en este germen y los denominó sustancia "C"<sup>15</sup>. Estos compuestos caracterizan los distintos grupos de estreptococos y mediante reacciones de precipitación permiten distinguir los grupos A, B, etc. hasta K, de los cuales el único patógeno para el hombre es el grupo A. Estos hidratos de

\* Pabellón de Cardiología "Luis H. Inchauspe". Hospital Ramos Mejía.

## COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA DEL ESTREPTOCOCO

carbono, específicos para cada grupo, son haptenes en el sentido de Landsteiner <sup>15</sup>, es decir, son capaces de reaccionar con los anticuerpos producidos en respuesta a la inyección de estreptococos, pero incapaces de producir anticuerpos cuando se los inyecta por sí solos.

Aparte de la sustancia "C", existe otro hidrato de carbono, el ácido hialurónico, polisacárido, no antigénico que se encuentra en distintos tejidos animales y aislado en el estreptococo por Kendall y colaboradores en 1937 <sup>16</sup>. Forma parte especialmente de la cápsula de algunos estreptococos <sup>17</sup>. En los animales, parece que su misión principal consiste en la retención del agua intersticial, con lo cual regula la permeabilidad tisural, tan importante a la economía como lo es la permeabilidad capilar o la celular <sup>18</sup>.

b) Sustancias proteicas. El estreptococo posee distintas sustancias proteicas, todas ellas antígenos verdaderos. La sustancia "M" <sup>15</sup> por ser específica de tipo, ha permitido a Griffith <sup>19</sup>, distinguir dentro del grupo A más de 30 tipos por reacciones específicas de aglutinación, que se denominan tipo 1, 2, 3, etc. Además de su importancia en la clasificación del grupo A, la sustancia "M" es la que confiere virulencia al germen <sup>20</sup>, y su destrucción que ocurre en ciertas circunstancias en las que insistiremos posteriormente, transforma las colonias del estreptococo de mucoideas en avirulentas <sup>21</sup>.

El antígeno "T" ha sido recientemente descrito también por Lancefield <sup>22</sup>, y confiere especificidad a los distintos tipos del estreptococo, pero no se toma en cuenta en la clasificación habitual, con lo que puede dar lugar a reacciones cruzadas. Cada tipo posee en general un antígeno "T" distinto, pero éste puede faltar y puede además ser común en varios tipos. Produce aglutininas y precipitinas específicas al inmunizar conejos y resiste la digestión proteolítica que destruye la sustancia "M". No tiene relación con la virulencia de las cepas.

La sustancia "Y", descrita originalmente por Lancefield <sup>15</sup>, es una proteína que aparece como contaminante de algunos antígenos "M" pero que se diferencia de éste por desaparecer después de la digestión péptica o tripsica del extracto. Es también altamente antigénica, pero no es específica de tipo.

La nucleoproteína "P" no es específica, al existir también en otros cocos Gram positivos, como el neumococo, etc. <sup>15</sup>.

Por último, Heidelberg y Kendall<sup>23</sup> han descripto otras fracciones proteicas dentro del estreptococo que denominaron sustancias "D", "E", "F" y "G". Mientras que la primera parece corresponder a la sustancia "Y" de Lancefield, las tres últimas estarían comprendidas dentro de la sustancia "P" de la misma autora.

c) Enzimas. Stevens y West<sup>24</sup> en 1922 analizaron la actividad enzimática del estreptococo y distinguieron:

- 1) una peptasa cuya actividad se desarrolla entre los pH 4.4 y 8.7, con un pH óptimo a 7.2. Es muy susceptible al cloroformo y ataca la caseína pero no a la albúmina plasmática.
- 2) una invertasa activa entre los pH 5.0 y 8.0, con un óptimo de acción a un pH 7.0, es destruída si se la expone a un pH 7.0 durante 10 minutos a 52° C.
- 3) una lipasa que actúa por encima de un pH 5.6 con el óptimo de actividad a un pH 7.9. Es destruída a una temperatura superior a 55° C por 10 minutos.

d) Pigmento. Durand y col. en 1923<sup>25</sup> y Olivieri en 1929<sup>26</sup> describieron la presencia de pigmento en algunas cepas estreptocócicas sin clasificar al germen. Wheeler y Foley, en 1942<sup>27</sup>, describieron un pigmento amarillo pardo en 4 cepas de 125 casos de infecciones estreptocócicas. El pigmento fué similar al observado en estreptococos del grupo B, que se estudió paralelamente como control. El pigmento, que formaría parte del grupo de los carotenoides, no es característico de ningún tipo estreptocócico y su importancia clínica no se ha determinado. Sevag y col.<sup>28</sup> han también caracterizado químicamente un pigmento estreptocócico.

B) *Componentes exocelulares del estreptococo.*

Las toxinas solubles y las exoenzimas de este germen son muy importantes por las reacciones tóxicas e inmunológicas que despiertan en el sujeto infectado.

a) Toxina eritrogénica. Produce los rashes cutáneos que se observan en algunas amigdalitis estreptocócicas y que adquieren su máxima expresión durante la escarlatina. Clínicamente se utiliza para demostrar la presencia de la antitoxina correspondiente, la que impide la producción del eritema típico al inyectarse intradérmicamente. (Reacción de Dick)<sup>29</sup>.

## COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA DEL ESTREPTOCOCO

b) Estreptolisina. Esta toxina confiere a algunas cepas de estreptococos la facultad de hemolizar los glóbulos rojos y permite al mismo tiempo dividirles en tres categorías:

- 1) los estreptococos  $\alpha$  producen en las placas de agar-sangre un pequeño halo verdoso de metahemoglobina. Son también conocidos con el nombre de estreptococos viridans de Schottmüller<sup>30</sup>.
- 2) los estreptococos  $\beta$  hemolíticos producen en el medio anterior una rápida y franca hemolisis. Todd<sup>31</sup> ha distinguido dos clases de lisinas: la estreptolisina "O" es altamente antigénica y es sensible al oxígeno que la oxida en una forma reversible. La estreptolisina "S" es resistente al oxígeno, pero es sensible al calor y a los ácidos; ha sido asimilada por algunos autores a la leucocidina, toxina que deprime los glóbulos blancos y que es a veces descrita por separado<sup>30</sup>.
- 3) los estreptococos  $\gamma$  o enterococos son anhemolíticos<sup>30</sup>.

c) Estreptokimasa (estreptofibrinolisisina). Tillet y Garner en 1933<sup>32</sup>, describieron la propiedad que poseían algunas cepas de estreptococos de licuar la fibrina. Esta enzima fué llamada estreptofibrinolisisina. Witebsky y Neber, en 1936<sup>33</sup>, demostraron distintas fibrinolisisinas al estudiar su acción en diferentes medios. Recientemente, Milstone<sup>34</sup>, Christensen<sup>35</sup> y Kaplan<sup>36</sup> modificaron la original y simple concepción de Tillet y Garner al demostrar que esta enzima proteolítica existe normalmente en el plasma pero en un estado inactivo que denominaron plasminógeno. El estreptococo posee un activador llamado estreptokimasa, que convierte la pre-enzima plasmática en plasmina o enzima activa. Posteriormente, Kaplan<sup>37</sup> describió una reacción cuantitativa para valorar la estreptokimasa, pero al no tener unidades absolutas, sus valores no son reproducibles en los distintos laboratorios.

d) Hialuronidasa. Fué descripta como uno de los "factores de difusión" por Duran-Reynals en 1928<sup>18</sup>. Hidroliza al ácido hialurónico<sup>38</sup> y siendo éste el encargado de la retención del agua tisural al hidrolizarse aumenta la permeabilidad del tejido. Las cepas productoras de hialuronidasa poseen pues alto poder de invasión y como la enzima y su substracto son mutuamente excluyentes, salvo excepciones, los estreptococos capsulados poseen escaso poder invasivo<sup>17</sup>. El salicilato de sodio<sup>39</sup> y el ácido gentísico in vivo, y este último también in vitro<sup>40</sup>, inhiben la acción de la hialuronidasa.

e) Proteínasa. Esta enzima fué descrita por Elliot<sup>21</sup>, en 1945. Digiere el antígeno "M", la caseína, la leche y la fibrina humana, pero no el ácido hialurónico. Que no es la peptasa de Stevens y West lo demuestra el hecho que no es inactivada si se la calienta a 57° C durante 10 minutos. Tampoco es idéntica a la fibrinolisisina ni a la toxina eritrogénica porque es destruída calentándola a 70° C durante 30 minutos. En realidad, el mismo autor demostró posteriormente<sup>41</sup> que se encuentra en los cultivos estreptocócicos bajo la forma inactiva de un precursor y que en condiciones favorables se convierte en la enzima activa. Las condiciones favorables están constituídas por la presencia de gérmenes vivos, de enzima activa, de sustancias reductoras, etc. Es inactivada por el contrario, por el ácido iodacético. La importancia de la proteínasa reside en el hecho que al destruir al antígeno "M" convierte a las cepas del estreptococo en avirulentas.

## 2. *La reacción inmunológica del huésped infectado con estreptococo hemolítico del grupo A.*

De acuerdo con un principio general en biología, la introducción parenteral de los antígenos descritos anteriormente, induce la formación de los anticuerpos correspondientes, que se pueden demostrar mediante procedimientos in vitro o por intradermorreacciones aproximadamente en el 65% de los casos<sup>42</sup>. El interés con que se han estudiado estas reacciones es motivado por el deseo de descubrir alguna diferencia en el comportamiento inmunológico del infectado estreptocócico, reumático y no reumático. Desgraciadamente no ha sido posible demostrar diferencias, si es que existen, con los métodos actuales<sup>5, 43, 44, 45</sup>.

Siguiendo el mismo plan adoptado para la descripción de los antígenos, se verán sucesivamente los anticuerpos producidos por los elementos endo y exocelulares del estreptococo.

A) *Antiendotoxinas.* De las sustancias endocelulares han sido especialmente estudiados los hidratos de carbono y las proteínas. El ácido hialurónico no es antigénico<sup>18</sup>, como ya se ha visto, y las enzimas y el pigmento no han recibido atención a este respecto.

La sustancia "C" produce aglutininas y precipitinas específicas<sup>46</sup>. Lo mismo se ha demostrado con respecto a la nucleoproteína "P"<sup>46</sup> y también a las fracciones "D", "E" y "F"<sup>43</sup>, y "T"<sup>22</sup>. Pero evidentemente, la mayor importancia debe ser asignada a la producción de anticuerpos anti-M que confieren inmunidad específica para

## COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA DEL ESTREPTOCOCO

la cepa causante <sup>47</sup>. Esto se ha demostrado en el hombre <sup>48</sup> y experimentalmente en monos <sup>49</sup> que se hacían inmunes para inoculaciones sucesivas del mismo tipo de estreptococo. Las investigaciones anteriores apoyan la tesis sostenida por Rantz y col. que las reinfecciones sucesivas de estreptococos son producidas por distintos tipos <sup>50</sup>.

B) *Antiexotoxinas*. Los componentes exocelulares también provocan importantes reacciones inmunológicas que han recibido preferente atención. La antiestreptolisina "O" ha sido prolijamente investigada <sup>51</sup>. Existe normalmente en los sujetos controles en los que sin embargo no es posible descartar una infección clínica o subclínica reciente <sup>43</sup>. Su nivel sanguíneo ha sido distintamente valorado y se admiten como cifras normales 100-200 Unidades Internacionales <sup>43, 44</sup>. Los niveles iniciales y el valor de la respuesta varían con la edad <sup>52</sup> así también como con la presencia de enfermedades sobreagregadas o con el bajo nivel social de los sujetos <sup>43</sup>. Coburn <sup>53</sup> señala el hecho interesante de la rareza de la fiebre reumática antes de los tres años y que tampoco existe antiestreptolisina por debajo de esa edad. En 10 pacientes menores de tres años que desarrollaron fiebre reumática, pudo constatar la presencia de antiestreptolisina. Por otra parte, la presencia o ausencia de antiestreptolisina, así también como su nivel alcanzado, no guarda relación ni con la severidad de la infección ni con el desarrollo de la fiebre reumática <sup>43, 44</sup>.

La antiestreptofibrinolisisina (en realidad antiestreptokimasa) aumenta también durante la infección estreptocócica pero tampoco guarda relación con el carácter de ésta <sup>54, 55</sup>.

La hialuronidasa provoca la aparición de anticuerpos específicos, aunque éstos existan normalmente en el plasma humano <sup>56</sup>. Su aumento parece ser mayor en los pacientes con fiebre reumática que en los no reumáticos <sup>57</sup> y su nivel parece reflejar la actividad reumática, aunque estos datos precisan confirmación.

Todd <sup>58</sup>, al inmunizar caballos con estreptococos, produjo un aumento de la antiproteinasa. El suero normal de caballo posee débil actividad antiproteínásica, pero no tiene antiestreptolisina "O". En pacientes con fiebre reumática, el nivel de antiproteinasa era pequeño, pero la inyección del suero de caballo con alto nivel de este anticuerpo no modificó el curso de la enfermedad. Teóricamente, el aumento de antiproteinasa, al inhibir la acción de esta enzima sobre el antígeno "M", aumentaría la virulencia del germen <sup>21</sup>.

### 3. *Variaciones de la respuesta inmunológica.*

De la misma manera que cepas iguales de estreptococo en distintos individuos pueden dar lugar a diferentes manifestaciones clínicas<sup>59</sup>, también varía la respuesta inmunológica a la infección estreptocócica. Tal respuesta es aparente en el 65% de los casos<sup>42</sup> y su carácter e intensidad depende de tres factores:

1º De la distinta composición antigénica de diferentes cepas<sup>15</sup>.

2º De la distinta modalidad reaccional del huésped<sup>60</sup>, y

3º De los efectos terapéuticos que disminuyen la cantidad de antígenos liberados (antibióticos, sulfadrogas<sup>61, 62</sup>) o que actúan sobre la capacidad de formar anticuerpos, como el salicilato de sodio que deprime la formación de globulinas<sup>63</sup>, fracción en la que se encuentran éstos.

Por último, algunos medicamentos varían indirectamente la respuesta inmunológica al modificar el mecanismo de acción del antígeno, como el salicilato de sodio<sup>39</sup> o el dicumarol<sup>64</sup> que inhiben in vivo la acción de la hialuronidasa.

### BIBLIOGRAFIA

1. *De Vecchi, B.* — "Arch. de Med. Exp. et d'Anat. Path.", 1912, 24, 352. Cit. por Jones<sup>6</sup>.
2. *Schlessinger, B., Signy, A. G. y Amies, C. R.* — Lancet, 1935, 1, 1145.
3. *Sabin, A. B.* — "Science", 1938, 88, 189.
4. *Sabin, A. B.* — Transactions of the Third International Congress for Microbiology, New York, 1939.
5. *Coburn, A. F.* — Lancet, 1936, 2, 1025.
6. *Jones, T. D.* — "J. Pediatr.", 1939, 15, 772.
7. *Rantz, L. A., Boisvert, P. J. y Spink, W. W.* — "Arch. Int. Med.", 1945, 76, 131.
8. *Coburn, A. F. y Pauli, R. H.* — "J. Exper. Med.", 1932, 56, 609; Ibid., 1935, 62, 129.
9. *Coburn, A. F. y Pauli, R. H.* — "J. Clin. Invest.", 1935, 14, 755.
10. *Ditkowsky, S. P., Stevenson, E. y Campbell, J. M.* — "J.A.M.A.", 1943, 121, 991.
11. *Rhoads, P. S. y Afremow, M. E.* — "Arch. Int. Med.", 1943, 71, 443.
12. *Holbrook, W. P.* — "J.A.M.A.", 1944, 126, 84.
13. *Quin, R. W.* — "Arch. Int. Med.", 1947, 80, 709.
14. *Rantz, L. A., Boisvert, P. J. y Spink, W. W.* — "Arch. Int. Med.", 1947, 79, 401.
15. *Lancefield, R. C.* — "J. Exp. Med.", 1928, 47, 91, 469, 481, 843, 857.
16. *Kendall, P. E., Heidelberg, M. y Dawson, M. H.* — "J. Biol. Chem.", 1937, 118, 61.

COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA DEL ESTREPTOCOCO

17. *Crowley, N.* — "J. Path. And Bact.", 1944, 56, 27.
18. *Duran Reynals, F.* — "Bact. Rev.", 1942, 6, 197.
19. *Griffith, F.* — Citado por *Topley, W. W. C.* y *Wilson, G. S.* "Bacteriología e inmunidad", 1ª ed., Salvat Ed. B. A., 1942, pág. 440.
20. *Lancefield, R. C.* — "The Harvey Lectures", 1940-41, 36, 251.
21. *Elliot, S. D.* — "J. Exper. Med.", 1945, 81, 573.
22. *Lancefield, R. C.* y *Dole, V. P.* — "J. Exper. Med.", 1946, 84, 449.
23. *Heidelberg, M.* y *Kendall, F. E.* — "J. Exper. Med.", 1931, 54, 515.
24. *Stevens, F. A.* y *West, R.* — "J. Exper. Med.", 1922, 35, 823.
25. *Durand, T.* y *Giraud, P.* — "Comp. Rend. Acad. de Sc.", 1923, 177, 1333.
26. *Olivieri, J.* — "J. d'Urol.", 1929, 27, 484.
27. *Wheeler, S. M.* y *Foley, G. E.* — "Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.", 1942, 49, 421.
28. *Sevag, M. G.*, *Smolens, J.* y *Sten, K. G.* — "Am. J. Med. Sc.", 1941, 201, 627.
29. *Dick, G. F.* y *Dick, G. H.* — "J.A.M.A.", 1924, 82, 265.
30. *Topley, W. W. C.* y *Wilson G. S.* — "Bacteriología e inmunidad", 1ª ed. Salvat Ed., B. A., 1942.
31. *Todd, E. W.* — "J. Path. Bact.", 1932, 35, 973.
32. *Tillet, W. S.* y *Garner, R. L.* — "J. Exper. Med.", 1933, 58, 485.
33. *Witebsky y Neber, E.* — "Proc. Soc. Biol." and "Exper. Med.", 1936, 34, 858.
34. *Milstone, H.* — "J. Immunol.", 1941, 42, 109.
35. *Christensen, L. R.* — "J. Gen. Physiol.", 1945, 28, 363.
36. *Kaplan, M. H.* — "Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.", 1944, 57, 40.
37. *Kaplan, M. H.* — "J. Clin. Invest.", 1946, 25, 347.
38. *Meyer, K.* — "Physiol. Rev.", 1947, 27, 335.
39. *Guerra, F.* y *Robles Gil, J.* — "Arch. Inst. Cardiol. Méj.", 1946, 16, 293.
40. *Meyer, K.*, *Ragan, C.* y *Weinshelbaum, H.* — "Fed. Proc.", 1948, 35, 305.
41. *Elliot, S. D.* y *Dole, V. P.* — "J. Exper. Med.", 1947, 35, 305.
42. *Rantz, L. A.*, *Spink, W. W.* y *Boisvert, P. J.* — "Arch. Int. Med.", 1947, 79, 272.
43. *Mote, J. R.* y *Jones, T. D.* — "J. Immunol.", 1941, 41, 35; *Ibid.* 1941, 41, 61.
44. *Wilson, M. G.*, *Wheeler, G. W.* y *Leask, M. M.* — "J. Clin. Invest.", 1935, 14, 333.
45. *Coburn, A. F.* y *Pauli, R. H.* — "J. Exper. Med.", 1935, 62, 137.
46. *Swift, H. F.* — "Medicine", 1940, 19, 417.
47. *Swift, H. F.* y *Hodge, B. E.* — "Proc. Soc. Biol. and Med.", 1936, 34, 849.
48. *Rothbard, S.* — "J. Exper. Med.", 1945, 82, 93.
49. *Watson, R. F.*, *Rothbard, S.* y *Swift, H. F.* — "J. Exper. Med.", 1946, 84, 127.
50. *Rantz, L. A.*, *Kirby, W. M.* y *Jacobs A. H.* — "J. Clin. Invest.", 1943, 22, 411.
51. *Todd, E. W.* — "Brit. J. Exper. Pathol.", 1932, 13, 248.
52. *Lippard, V. W.* y *Johnson, P.* — "Am. J. Dis. Children", 1935, 49, 1411.
53. *Coburn, A. F.* — "Am. J. Dis. Children", 1945, 70, 339.
54. *Anderson, H. C.*, *Kunkel, H. G.* y *Mc Carty, M.* — "J. Clin. Invest.", 1948, 27, 425.
55. *Perry, C. B.* — "Arch. Dis. Children", 1939, 14, 32.
56. *Friere, G. J.* y *Wenner, H. A.* — "J. Infect. Dis.", 1947, 80, 185.
57. *Quinn, R. W.* — "J. Clin. Invest.", 1948, 27, 463, 471.
58. *Todd, E. W.* — "J. Exper. Med.", 1947, 85, 591.



59. Rantz, L. A. — "Arch. Int. Med.", 1944, 73, 238.
60. Aikawa, J. K. — "Ann. Int. Med.", 1945, 23, 969.
61. Rantz, L. A., Boisvert, P. J. y Spink, W. W. — "Science", 1946, 103, 352.
62. Kilbourne, E. D. y Loge, J. P. — "J. Clin. Invest.", 1948, 27, 418.
63. Swift, H. F. — "J. Exper. Med.", 1922, 36, 735.
64. Beiler, J. M. y Martin, G. J. — "J. Biol. Chem.", 1947, 171, 507.

