

MESA REDONDA SOBRE *Staphylococcus aureus*.

Dr. SCHELOTTO.- Yo voy a abordar algunas consideraciones complementarias que quizá dejen algunas reflexiones pendientes para continuar el desarrollo de los conocimientos y los recursos apropiados para enfrentar esta bacteria que está resultando preocupante en su comportamiento y sus infecciones.

Se trata, como ya ha sido presentado, de una bacteria: *Staphylococcus aureus*, con múltiples atributos de patogenicidad, que en el caso de la variante meticilino resistente comunitaria tiene algunas particularidades que ya han sido mencionadas, algunos componentes especiales de patogenicidad, características de rápida proliferación y de producción de algunas toxinas peculiares.

Es una bacteria integrante de la flora normal pero a la vez capaz de patologías severas, y es también un agente de procesos recidivantes, que en este caso, el caso del germen resistente que nos preocupa, se presentan también en proporción importante, o sea que se trata de una bacteria que si bien es capaz de convivir con el huésped normal, también es capaz de producir procesos severos y de evadir las respuestas defensivas del organismo, de tal modo que el tipo de procesos que nuestro organismo pone en juego para interactuar con este germen no resultan efectivos para evitar la existencia de recidivas o de infecciones rápidamente progresivas.

Frente al fracaso progresivo de la antibióticoterapia, y a la adaptación creciente de estos gérmenes a la resistencia (a los betalactámicos, a través de mecanismos que no pueden ser salvados por inhibidores de enzimas, por ejemplo; a las quinolonas, como ya ha sido presentado; a los mismos macrólidos y a otros antibióticos) es necesario enfocar también o pensar en la posibilidad de la inmunoprophilaxis. Es decir, pensar en conseguir en el huésped una respuesta que sea efectiva para contener el microorganismo. Con los componentes del propio germen que en la infección natural no dan lugar a una respuesta inmune protectora, o por lo menos efectivamente protectora, conseguir por procesos de inmunización, inducir una respuesta inmune por lo menos parcialmente protectora, o que contenga la difusión o la recidiva.

El recurso preventivo en caso de lograrse es siempre más efectivo que el intento de contener la situación ya producida.

Esta transparencia es la exposición, que ya fue presentada en parte, del "armamento" o conjunto de componentes de virulencia que este germen presenta, que van desde sus componentes de pared: peptidoglican y ácidos teicoicos, proteína A que fija anticuerpos, las adhesinas que ya fueron mencionadas, las enzimas como coagulasa, DNAsa, etc, y algunas propiedades peculiares de los meticilinos resistentes, como ser las PBP2a, proteínas externas de resistencia, de síntesis del peptidoglican con resistencia a los betalactámicos, que algunos interpretan que

intervienen también en la capacidad de proliferación más acelerada que tienen estos gérmenes, o que pueden intervenir en interacción con otros componentes.

Se ven también expuestas toxinas diversas: toxinas formadoras de poros, la alfatoxina característica, las leucocidinas, gamma toxina, y la toxima de Panton-Valentine; es decir, toxinas que producen poros y lisis por pérdida de sustancia de las células sobre las cuales actúan. También toxinas beta y delta, que son toxinas de acción superficial sobre la membrana de nuestras células eucariotas; exfoliatinas; enterotoxinas y toxinas de shock tóxico, que son super antígenos, o sea que estas últimas son estimuladoras inespecíficas e intensas del aparato inmunitario con producción de citoquinas y de múltiples mediadores en concentración patológica.

Se presentan también las enzimas extracelulares o que se liberan durante la lisis microbiana, y los polisacáridos capsulares, de los cuales los más frecuentes son los de tipo 5 y 8, y que han sido especialmente estudiados en los últimos años en su expresión in vitro e in vivo.

Los polisacáridos capsulares se ven en la foto a la izquierda, revelados gracias al microscopio electrónico luego de reacción con el anticuerpo específico. A la derecha se ve el mismo germen en su variante no capsulada. Estos componentes polisacarídicos capsulares se consideran importantes en la patogenicidad y

también en cuanto a la posibilidad de contener o de dar lugar a una respuesta inmune de valor protector.

La presencia de estas cápsulas, de estos polisacáridos, le permite al germen evadir la fagocitosis y sólo en presencia de anticuerpos que ligan o que pueden ligar el soma bacteriano a los correspondientes fagocitos, este efecto de evasión se va perdiendo.

(La siguiente)

Los polisacáridos que presentamos anteriormente no son de por sí inmunógenos que despierten una respuesta de valor prolongado y en general, para que la respuesta inmune sea timo dependiente y con memoria sostenida, deben asociarse a proteínas, lo que se conoce actualmente como inmunógenos conjugados polisacáridos-proteínas. Se están ensayando estos conjugados actualmente, como vacunas en desarrollo.

Otro tipo de inmunógeno, de producto patológico que puede ser de valor en inmunización son las toxinas formadoras de poros.

Todas las toxinas o prácticamente todas las que hemos mencionado han sido objeto de transformación en toxoide por formol y de inmunización con generación de anticuerpos. O sea que son todas transformables en toxoides, y en concreto estas que estamos mencionando acá, la alfa toxina, la toxina de Panton Valentine y sus componentes.

Estas toxinas son poliméricas, la alfa toxina es la clásica, la antiguamente más conocida; es heptamérica; la siguiente, PVL, es

hexamérica; todas contienen dos componentes, dos tipos de proteínas, una que inicia la fijación sobre las células y otra que termina de producir la formación del poro por polimerización. Se forman poros en las células eucariotas y se terminan destruyendo en el caso de la alfa toxina los eritrocitos y otras células; en el caso de las leucocidinas principalmente los leucocitos.

Estas toxinas o sus toxoides como tales, combinados, conjugados o como alternativa de los polisacáridos, pueden ser también componentes importantes en inmunización.

(La siguiente)

Y acá es como se ensamblan estas proteínas para formar el poro que determina la lisis celular, a la izquierda se ve la alfa toxina con su conformación en forma de barril, con una región que corresponde a la altura de la membrana de la célula eucariota, y a la derecha se ven los monómeros de estas proteínas, primero los de la alfa toxina y luego los de la leucocidina.

(La siguiente)

Esto es lo mismo: a la izquierda se ven desde arriba y desde abajo los poros formados por estas toxinas, y en la siguiente, igual que en la otra diapositiva, se ve cómo se van construyendo estos poros a partir de los monómeros proteicos en forma de fibras beta de las toxinas.

(La siguiente)

El propósito de pensar en inmuno profilaxis sería obtener una respuesta que contenga la proliferación, el daño local y la difusión

orgánica, o sea lo que parece crucial en el proceso infeccioso que produce este germen: es decir, contener no la toxicidad sistémica, que no es su propiedad patogénica principal, sino la proliferación, el daño local y la difusión a partir del foco de infección.

Al parecer, en la posibilidad de inmunización o de modulación de la respuesta inmune tienen jerarquía los componentes superficiales de pared, la cápsula que ya vimos y los toxoides como posibles inductores de respuestas potencialmente protectoras.

Hay vacunas en ensayo; los nombres comerciales, o lo que serán nombres comerciales, son los que ahí figuran. La primera es una vacuna polisacárido-proteína; la segunda es una vacuna que contiene cuerpos bacterianos inactivados y toxoides de varias toxinas de este germen.

El uso que se ha pensado para ellas es diferente. La primera está diseñada para un uso preventivo más amplio que la segunda, que está pensada para la contención de la recidivancia y de la difusión de las infecciones.

Localmente hay experiencia en el Instituto de Higiene, durante muchos años, de producción de una vacuna que se llamó vacuna antiestafilocócica VAEm, cuya producción estaba a cargo de la doctora Haydeé Cantone, a quien llegamos a conocer en su periodo de trabajo pre-dictadura. En este momento no se está produciendo; consistía en cuerpos bacterianos inactivados enteros, cuerpos bacterianos descompuestos en sub-unidades y

toxóide, fundamentalmente derivado de alfatoxina, incorporado a la vacuna en distintas proporciones. Se usaba en dosis progresivamente crecientes, y en valoración de los colegas que siguen reclamando en muchos casos su utilización, lograba contener en muchos casos la recidivancia, la reproducción de las infecciones estafilocócicas.

Si pensamos en actualizar preparados inmunizantes o ensayarlos en la nueva situación, para las cepas que actualmente circulan, es necesario manejar preparados inmunizantes que contengan las cepas y los productos patogénicos potencialmente generadores de inmunidad protectora apropiados a las bacterias actualmente circulantes.

Eso requiere analizar más profundamente (ya se ha hecho, pero se requiere continuarlo) cuáles son las cepas prevalentes, e incorporarlas eventualmente en los preparados inmunizantes.

La caracterización de esas cepas se puede hacer como fue presentado a través de técnicas de PCR que detecten las secuencias codificantes de los distintos componentes que contengan; se puede hacer también por electroforesis en campo pulsado; se puede hacer por caracterización antígeno-anticuerpo de sus componentes capsulares o de sus toxinas; se puede hacer por estudios más completos del genoma a través de lo que se llama los microarrays o directamente por secuenciación, y también se puede hacer por amplificación al azar del material genético, lo que se llama RAPD-PCR, que es una técnica que en el

Instituto de Higiene está organizada y probada para bacterias gram negativas y que la literatura informa que se ha aplicado de modo bastante extenso y muy efectivo para la caracterización de cepas de *Staphylococcus aureus*.

En concreto, acá tenemos una foto de electroforesis en campo pulsado y en esta siguiente se ven perfiles de análisis por RAPD-PCR o APPCR, comoquiera llamársele: amplificación al azar de diferentes cepas; este es un estudio donde se comparan cepas de origen animal y cepas humanas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comunitario, pensando en la eventualidad de transferencia de unas cepas de un ambiente al otro. Esto es un estudio hecho en Corea.

Es de mencionar que hay que poner en juego múltiples herramientas para caracterizarías cepas que están circulando y que van a seguir circulando y que disponemos de recursos como para ampliar su estudio, incluso pensando en su manejo con finalidad de modulación de la respuesta inmune. Esto no será en el corto o mediano plazo con la finalidad de proteger ampliamente y en forma preventiva a toda la población, pero sí como recurso adicional para contener, donde sea necesario producirlo, las infecciones invasivas en determinados ambientes, o las recidivancias como se hacía en otros períodos.

Bueno, este aspecto del problema es simplemente un aporte sobre el cual conviene continuar pensando. Se nos ha sugerido estudiar el tema, la gente que se ocupa de estos aspectos biotecnológicos

en el Instituto de Higiene lo está realizando, de modo que es un tema abierto y de desarrollo.

Creo que debemos volver a la discusión de lo presentado anteriormente. de modo de intercambiar los diversos puntos de vista.

Acá termina, en página 43, mi participación principal

Y aquí está, en página 61, mi único comentario adicional

Dr. SCHELOTTO.- La realidad es que en esta misma semana el Ministerio de Salud Pública convocó a estas personas presentes y a otras, para resumir el conjunto de datos que se han presentado y tratar de obtener las conclusiones y las recomendaciones a las cuales se requiere llegar.