



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

## Caracterización de estreptococos beta-hemolíticos del grupo A con fenotipo mucoide aislados en un hospital de tercer nivel



Julia Guzmán-Puche<sup>a,b,\*</sup>, Rocio Tejero-García<sup>a,b</sup>, Pilar Villalón<sup>c</sup>, Silvia Pino-Rosa<sup>c</sup> y Luis Martínez-Martínez<sup>a,b,d</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Gestión Clínica de Microbiología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España

<sup>b</sup> Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba, Córdoba, España

<sup>c</sup> Laboratorio de Referencia e Investigación en Taxonomía, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

<sup>d</sup> Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología, Universidad de Córdoba, Córdoba, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 25 de agosto de 2020

Aceptado el 18 de diciembre de 2020

On-line el 13 de febrero de 2021

Palabras clave:

*Streptococcus pyogenes*

Escarlatina

Mucoide

Serotipo *emm3*

### R E S U M E N

**Introducción:** El objetivo de este estudio es la caracterización de cepas de *Streptococcus pyogenes* con fenotipo mucoide y su comparación con las cepas no mucoides aisladas entre abril y agosto de 2016.

**Material y métodos:** Se llevó a cabo la caracterización y el estudio de sensibilidad antimicrobiana de todos los aislados. Se determinó el tipo *emm* y se analizaron los genes de exotoxinas *speA*, *speB*, *speC*, *speF*, *speG*, *speH*, *speJ*, *speZ* y *ssa*. Se recogieron datos clínicos y demográficos.

**Resultados:** De 96 aislados analizados, el 47% presentaron un fenotipo mucoide, y de estos últimos, el 95,5% presentaron los genes *speA-speB-speF-speG-ssa* y genotipo *emm3*. La principal manifestación clínica entre todos los pacientes fue faringoamigdalitis (77,1%) que evolucionó a escarlatina en el 67,5% de los casos.

**Conclusión:** Se describe la circulación de una cepa de aspecto mucoide con perfil de toxinas *speA-speB-speF-speG-ssa* y genotipo *emm3.1* considerado de los más frecuentes y más virulentos de SGA.

© 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Characterization of group A beta-haemolytic streptococcus with mucooid phenotype isolated in a tertiary hospital

### A B S T R A C T

**Introduction:** The objective of this study is to characterize *Streptococcus pyogenes* isolates with a mucooid phenotype and to compare them with non-mucooid isolates obtained between April and August 2016.

**Material and methods:** Identification and antimicrobial susceptibility were performed in all isolates. The *emm* type and exotoxin genes *speA*, *speB*, *speC*, *speF*, *speG*, *speH*, *speJ*, *speZ* and *ssa* were analyzed. Clinical and demographic data were collected.

**Results:** From 96 isolates analyzed, 47% had a mucooid phenotype and 95.5% of them presented *speA-speB-speF-speG-ssa* genes and *emm3* genotype. The main clinical manifestation was pharyngotonsillitis (77.1%) evolving to scarlet fever in 67.5% of the cases.

**Conclusion:** This study describes the circulation of a mucooid phenotype strain with a *speA-speB-speF-speG-ssa* toxin profile and *emm3.1* genotype considered one of the most frequent and virulent of SGA.

© 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Keywords:

*Streptococcus pyogenes*

Scarlet fever

Mucoid

Serotype *emm3*

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [juliam.guzman.sspa@juntadeandalucia.es](mailto:juliam.guzman.sspa@juntadeandalucia.es) (J. Guzmán-Puche).

## Introducción

*Streptococcus pyogenes* o estreptococo beta-hemolítico del grupo A (SGA) causa numerosos procesos infecciosos que abarcan desde faringitis o infecciones cutáneas hasta enfermedades invasivas como bacteriemia, artritis séptica, neumonía, síndrome del shock tóxico o sepsis puerperal<sup>1</sup>.

Como principal factor de virulencia del SGA se ha descrito la proteína M, codificada por el gen *emm*, empleada para clasificar las cepas en diversos genotipos<sup>2</sup>. Otros determinantes de virulencia son las exotoxinas pirogénicas estreptocócicas, codificadas por los genes *spe*, y la expresión de polisacárido capsular de ácido hialurónico que confiere un aspecto mucoso a las colonias<sup>3</sup>.

En abril de 2016, se observó un aumento repentino de aislados de *S. pyogenes* con fenotipo mucoso en las muestras recibidas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba (HURS). El objetivo de este estudio fue la caracterización epidemiológica y molecular de estas cepas con fenotipo mucoso y su comparación con las cepas no mucosoides aisladas en el mismo período de tiempo.

## Material y métodos

Se estudiaron los aislados de SGA obtenidos de muestras clínicas recibidas en el Servicio de Microbiología del HURS entre abril y agosto de 2016. Las muestras se sembraron en placas de agar sangre con un disco de bacitracina y se incubaron durante 48 h en atmósfera enriquecida con el 5% de CO<sub>2</sub> a 35 ± 2 °C. La identificación y la sensibilidad antimicrobiana se llevó a cabo mediante microdilución con paneles del sistema semiautomatizado Wider (Panel 94B MIC/ID, Francisco Soria Melguizo SA, Madrid, España). Los resultados se interpretaron de acuerdo al «European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing» (EUCAST). Los aislados resistentes a eritromicina se clasificaron en 3 fenotipos en función del patrón de sensibilidad mostrado en el test de doble disco con eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg): fenotipo M (eritromicina resistente y clindamicina sensible), fenotipo constitutivo MLS<sub>B</sub> (eritromicina y clindamicina resistente) y fenotipo inducible MLS<sub>B</sub> (eritromicina resistente y resistencia inducible a clindamicina detectada por el achatamiento del halo de inhibición de clindamicina cerca del disco de eritromicina).

La caracterización molecular de las cepas se llevó a cabo en el Instituto de Salud Carlos III. Se determinó el genotipo *emm* de todos los aislados mediante amplificación por PCR y posterior secuenciación del gen *emm* siguiendo el protocolo de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (<https://www.cdc.gov/streplab/protocol-emm-type.html>). Se analizaron los genes de exotoxinas *speA*, *speB*, *speC*, *speF*, *speG*, *speH*, *speJ*, *speZ* y *ssa* mediante PCR<sup>4</sup>. Se recogieron datos clínicos y demográficos de los pacientes en los que se aislaron las cepas estudiadas. Los datos fueron analizados en el programa SPSS® versión 19.0.

## Resultados

Se analizaron un total de 96 aislados de SGA obtenidos de exudados faríngeos (74; 77,1%), esputos (4; 4,2%), exudados vaginales (8; 8,3%), exudados de herida (3; 3,1%), sangres (2; 2,1%), exudado ótico (1; 1%), broncoaspirado (1; 1%), biopsia ganglionar (1; 1%), líquido pleural (1; 1%) y loquios (1; 1%). Las muestras procedían de 14 centros de atención primaria (CSs) (70; 72,9%), urgencias pediátricas (9; 9,4%), consultas especializadas (10; 10,4%), medicina interna (4; 4,2%), unidad de cuidados intensivos (2; 2,1%) y cirugía torácica (1; 1%). La edad media de los pacientes del estudio fue de 16 años (rango: < 1 a 76 años), siendo el 61,5% mujeres y el 38,5% varones.

Las colonias de 45 (46,9%) de los aislados presentaron un aspecto mucoso y 51 (53,1%) tenían la apariencia clásica de colonias planas brillantes.

En el conjunto de los 96 aislados se identificaron 13 genotipos, siendo el más frecuente el tipo *emm3* (49,4%), seguido de *emm4* (10,4%), *emm6* (6,3%) y *emm12* (5,2%). En 11 pacientes se identificó un nuevo subtipo *emm3*, clasificado por el CDC como *emm3.166*. Entre los aislados con fenotipo mucoso, 44 (97,8%) pertenecieron al tipo *emm3*, siendo en su mayoría el subtipo *emm3.1* (75,6%) y *emm3.166* (15,6%). El otro aislado mucoso correspondió al tipo *emm77*. El 31,4% de los aislados no mucosoides presentaron el genotipo *emm3*, incluyendo *emm3.1* (23,5%) y *emm3.166* (7,8%), así como otros 10 genotipos siendo los más frecuentes *emm4* (19,6%), *emm6* (11,8%) y *emm12* (9,8%).

Se identificaron 19 perfiles de toxinas diferentes. Los genes *spe* más comunes fueron *speB* (92,7%), *speF* (91,6%) y *speG* (86,5%). El 95,5% de las cepas con fenotipo mucoso presentaron los genes *speA-speB-speF-speG-ssa*. En las cepas con fenotipo no mucosoides los perfiles de toxinas más comunes fueron *speA-speB-speF-speG-ssa* y genotipo *emm3* (25,5%) seguido de *speB-speC-speF-speG-speH* y genotipo *emm6* (21,6%).

Todos los aislamientos fueron sensibles a penicilina, ampicilina, clindamicina y vancomicina. Tres aislamientos mostraron resistencia a eritromicina con fenotipo M de resistencia a macrólidos presentando el genotipo *emm77* con fenotipo mucoso, *emm3* con fenotipo mucoso y *emm94* con fenotipo no mucoso.

La principal manifestación clínica fue la faringoamigdalitis en el 77,1% de los casos que evolucionó a escarlatina en el 67,5% de ellos. El 65% de estos casos fue en menores de 5 años. No se observaron diferencias significativas ( $p = 0,220$ ) entre el fenotipo mucoso y no mucoso en cuanto al desarrollo de escarlatina. El 67,3% de los aislados productores de escarlatina presentaron el tipo *emm3*, aunque esta tendencia no alcanzó una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0,17$ ).

Se diagnosticaron 6 enfermedades invasivas, siendo 4 de ellas (una bacteriemia, una mediastinitis, una artritis de rodilla y una adenopatía cervical) producidas por aislados con fenotipo mucoso y genotipo *emm3.1*, no encontrando asociación estadísticamente significativa ( $p = 0,316$ ). Dos de estos pacientes fallecieron. Las otras 2 enfermedades invasivas (una bacteriemia que finalizó en exitus y una sepsis puerperal) fueron producidas por aislados con fenotipo no mucoso con genotipo *emm87* y *emm89*. Se produjo otro fallecimiento en un paciente con cáncer de pulmón en quien se aisló SGA (fenotipo no mucoso con genotipo *emm1*) en una muestra de esputo. El resto de manifestaciones clínicas fueron 8 vaginitis, 3 neumonías, 2 infecciones de herida y una infección ótica.

En la [tabla 1](#) se presenta la distribución de los casos aislados por fenotipo, tipo de muestra, síndrome, genotipo *emm* y perfil de genes exotoxinas.

## Discusión

Los genotipos *emm* más prevalentes de SGA a nivel global son *emm1*, *emm28*, *emm3*, *emm89* y *emm4*. Esta distribución varía significativamente según la región geográfica y manifestación clínica, siendo los tipos *emm1*, *emm3*, *emm28* y *emm18* los más asociados con enfermedad invasiva<sup>5,6</sup>. En España, los genotipos *emm* más frecuentes son *emm1*, *emm3*, *emm4*, *emm12*, *emm28* y *emm89*, asociándose principalmente *emm1* y *emm3* con enfermedad invasiva<sup>7,8</sup>.

De las 6 enfermedades invasivas observadas en este estudio, 4 de ellas fueron producidas por el tipo *emm3* con fenotipo mucoso, mostrando una tendencia no estadísticamente significativa debido probablemente al bajo número de aislados productores de enfermedades invasivas obtenidos en esta serie.

**Tabla 1**  
Relación entre fenotipo, tipo de muestra, síndrome, genotipo *emm* y perfil de genes de exotoxinas en 96 aislamientos de estreptococos del grupo A

Fenotipo (n)	Tipo muestra (n)	Síndrome (n)	Genotipo <i>emm</i> (n)	Perfil exotoxinas (n)
Mucoide (45)	Exudado faríngeo (34)	Faringoamigdalitis (9)	3.1 (6)	A,B,F,G,J,ssa (2) A,B,F,G,ssa (4)
			3.93 (1)	A,B,F,G,ssa 1
			3.166 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
			77 (1)	B,C,F (1)
			3.1 (18)	A,B,F,G,J,ssa (4) A,B,F,G,ssa (13) A,G,ssa (1)
		3.166 (6)	A,B,F,G,ssa (6)	
		3.93 (1)	A,B,F,G,ssa (1)	
		Escarlatina (25)	3.1 (1)	A,B,F,G,J,ssa (1)
			3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
		Espudo (2)	Neumonía (1) Bronquiectasias (1)	3.1 (1)
	3.1 (1)			A,B,F,G,ssa (1)
	Líquido pleural (1)	Mediastinitis (1) <sup>a</sup>	3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
			3.1 (3)	A,B,F,G,J,ssa (1) A,B,F,G,ssa (1) G,ssa (1)
	Exudado vaginal (4)	Vulvovaginitis (4)	3.24 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
			3.1 (1)	A,B,F,G,J,ssa (1)
	Exudado ótico (1)	Otitis media (1)	3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
			3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
	Sangre (1)	Bacteriemia (1) <sup>a</sup>	3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
			3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
	Exudado purulento (1)	Artritis de rodilla (1) <sup>a</sup>	3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)
3.1 (1)			A,B,F,G,ssa (1)	
Biopsia ganglionar (1)	Adenopatía cervical (1) <sup>a</sup>	3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)	
		1.0 (1)	A,B,F,G,J,Z (1)	
No mucoide (51)	Exudado faríngeo (40)	Faringoamigdalitis (16)	3.1 (5)	A,B,F,G,J,ssa (1) A,B,F,G,ssa (3) B,F,G,ssa (1) A,B,F,G,ssa (1) B,C,F,J,Z,ssa (1) B,C,F,Z,ssa (2) B,C,F,G (1)
			3.166 (1)	B,C,F,G,H (1)
			4.0 (4)	Negativo (1) B,C,F,G (1)
			6.0 (1)	A,B,C,F,G,H (1)
			12.0 (2)	B,F,G (1)
		82.0 (1)	A,B,F,G,J,Z (1)	
		89.0 (1)	A,B,F,G,ssa (6)	
		Escarlatina (24)	1.0 (1)	Negativo (1)
			3.1 (6)	A,B,F,G,ssa (2) A,B,F,G,ssa (2) C,Z,ssa (2) B,C,F,Z,ssa (4) B,C,F,G,H (3) B,C,F,G,H (2) B,C,F,G (1)
		3.166 (3)	B,C,F,G,J,Z,ssa (1) B,C,F,G,H (1) Negativo (1)	
	4.0 (6)	B,C,F,G,H (1) B,C,F,G,H (1) B,C,F,G,H (1) B,C,F,G (1)		
	6.0 (3)	B,C,F,G,H (1)		
	12.0 (2)	B,C,F,G,H (1)		
	21.0 (1)	B,C,F,G (1)		
	87.0 (1)	B,C,F,G,J,Z,ssa (1)		
	94.1 (1)	B,C,F,G,H (1)		
	Espudo (2)	Neumonía (1) Bronquiectasias (1)	1.0 (1)	Negativo (1)
			6.0 (1)	B,C,F,G,H (1)
	Broncoaspirado (1)	Neumonía (1)	12.0 (1)	B,C,F,G,H (1)
			87.0 (1)	B,F,G,J,Z,ssa (1)
Sangre (1)	Bacteriemia (1) <sup>a</sup>	2.0 (1)	B,C,F,G,J (1)	
		3.1 (1)	A,B,F,G,ssa (1)	
Exudado vaginal (4)	Vulvovaginitis (4)	6.0 (1)	B,C,F,G,H,J (1)	
		12.36 (1)	B,C,F,G,H (1)	
Exudado purulento (2)	Herida inguinal (1) Úlcera por presión (1)	75.0 (1)	B,C,F,G (1)	
		6.4 (1)	B,C,F,G,H (1)	
Loquios (1)	Sepsis puerperal (1) <sup>a</sup>	89.0 (1)	B,C,G (1)	

<sup>a</sup> Enfermedades invasivas.

Se detectó un caso de sepsis puerperal por el genotipo *emm*89, previamente asociado con esta enfermedad<sup>3</sup>.

En otras partes del mundo, como EE. UU., las cepas mucoides están ampliamente distribuidas, pero existen pocos estudios sobre este fenotipo en España. Varios trabajos asocian este factor de virulencia con el genotipo *emm*3<sup>9,10</sup>. El 97,8% de los aislados con fenotipo mucoide de este estudio presentó el genotipo *emm*3 (*emm*3.1, *emm*3.24, *emm*3.93 y el de nueva descripción *emm*3.166), siendo mayoritariamente *emm*3.1 con perfil de toxinas *speA-speB-speF-speG-ssa*. La población no mucoide presentó hasta 11 genotipos *emm* distintos, siendo igualmente *emm*3.1 uno de los más frecuentes, así como diferentes perfiles de toxinas.

El 51% de los pacientes desarrollaron escarlatina, siendo el 65% menores de 5 años. Esto podría dificultar la diferenciación de este

cuadro con infecciones virales más propias de esta edad. Estos datos coinciden con los obtenidos por estudios en otros países que observan un aumento de la tasa de escarlatina en los últimos años<sup>11</sup>. En España, al no ser la escarlatina una enfermedad de declaración obligatoria es difícil determinar su incidencia real.

Algunos autores asocian la producción de exotoxina pirogénica *speA* con la aparición de escarlatina<sup>12</sup>. En este estudio el 69% de los aislados productores de escarlatina portaban el gen *speA* frente al 60% de los aislados productores de faringitis, no observando diferencias significativas ( $p=0,419$ ) entre ambos grupos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores donde tampoco observaron diferencias<sup>13</sup>.

Los 3 aislados resistentes a eritromicina (*emm*77, *emm*3 y *emm*94) presentaron el fenotipo M, siendo este el más frecuente

en los SGA aislados en España. La resistencia a antibióticos en SGA se concentra en algunos genotipos siendo *emm77* uno de los tipos *emm* más resistentes. El genotipo *emm94* es más infrecuente en España, pero presenta igualmente alta resistencia a eritromicina.

Se describe la circulación de una cepa de aspecto mucoso con perfil de toxinas *speA-speB-speF-speG-ssa* y genotipo *emm3.1* considerado de los más frecuentes y más virulentos de SGA<sup>3,5</sup>.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

- Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:470–511.
- Griffith F. The Serological Classification of *Streptococcus pyogenes*. *J Hyg (Lond).* 1934;34:542–84.
- Luca-Harari B, Darenberg J, Neal S, Siljander T, Strakova L, Tanna A, et al. Clinical and microbiological characteristics of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *J Clin Microbiol.* 2009;47:1155–65.
- Schmitz FJ, Beyer A, Charpentier E, Normark BH, Schade M, Fluit AC, et al. Toxin-gene profile heterogeneity among endemic invasive European group A streptococcal isolates. *J Infect Dis.* 2003;188:1578–86.
- Steer AC, Law I, Matatolu L, Beall BW, Carapetis JR. Global *emm* type distribution of group A streptococci: Systematic review and implications for vaccine development. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:611–6.
- Lamagni TL, Darenberg J, Luca-Harari B, Siljander T, Efstratiou A, Henriques-Normark B, et al. Epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2359–67.
- Rivera A, Rebollo M, Miro E, Mateo M, Navarro F, Gurgui M, et al. Superantigen gene profile, *emm* type and antibiotic resistance genes among group A streptococcal isolates from Barcelona, Spain. *J Med Microbiol.* 2006;55:1115–23.
- Montes M, Ardanuy C, Tamayo E, Domenech A, Linares J, Perez-Trallero E. Epidemiological and molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* isolates causing invasive disease in Spain (1998–2009): Comparison with non-invasive isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:1295–302.
- Tamayo E, Montes M, Garcia-Medina G, Garcia-Arenzana JM, Perez-Trallero E. Spread of a highly mucoid *Streptococcus pyogenes emm3/ST15* clone. *BMC Infect Dis.* 2010;10:233.
- Sierra JM, Sanchez F, Castro P, Salvado M, de la Red G, Libois A, et al. Group A streptococcal infections in injection drug users in Barcelona, Spain: Epidemiologic, clinical, and microbiologic analysis of 3 clusters of cases from 2000 to 2003. *Medicine (Baltimore).* 2006;85:139–46.
- Watts V, Balasegaram S, Brown CS, Mathew S, Mearkle R, Ready D, et al. Increased Risk for Invasive Group A *Streptococcus* Disease for Household Contacts of Scarlet Fever Cases, England, 2011–2016. *Emerg Infect Dis.* 2019;25:529–37.
- Tyler SD, Johnson WM, Huang JC, Ashton FE, Wang G, Low DE, et al. Streptococcal erythrogenic toxin genes: detection by polymerase chain reaction and association with disease in strains isolated in Canada from 1940 to 1991. *J Clin Microbiol.* 1992;30:3127–31.
- Wu PC, Lo WT, Chen SJ, Wang CC. Molecular characterization of Group A streptococcal isolates causing scarlet fever and pharyngitis among young children: A retrospective study from a northern Taiwan medical center. *J Microbiol Immunol Infect.* 2014;47:304–10.