

Comentario al artículo del mes. Septiembre 2019

Validation of Predicted Virulence Factors in *Listeria monocytogenes*: Identified Using Comparative Genomics. Abdelhamed et al *Toxins* 2019, 11, 508; doi: 10.3390/toxins11090508

Resumen

El artículo detalla un trabajo experimental que busca poner de manifiesto nuevos factores de virulencia específicos de las cepas patógenas de *Listeria monocytogenes*. Para ello, compararon en un estudio preliminar las secuencias del genoma de cepas patógenas de *Listeria monocytogenes* (cepas EGD-e y F2365) frente a cepas de *Listeria* no patógenas, como *L. innocua* CLIP1182 o *L. monocytogenes* cepa HCC23. El objetivo fue localizar proteínas presentes en las cepas patógenas y ausentes en cepas no patógenas de la misma especie o especies relacionadas.

Se han descrito 17 especies de *Listeria*, siendo *L. monocytogenes* la que está principalmente implicada en infecciones relacionadas con los alimentos. Se estudiaron posibles diferencias entre los patógenos, cepas con mutaciones seleccionadas y cepas mutantes complementadas con el patógeno original, para evaluar la influencia de distintas proteínas sobre aspectos relacionados con la patogénesis del microorganismo, como el crecimiento de las cepas, la capacidad de adhesión e invasión sobre las células del huésped, el desarrollo de virulencia y la adaptación para la colonización de ratones en experimentos *in vivo*.

El análisis comparado de las secuencias reveló un conjunto de proteínas que estaban presentes en las cepas patógenas y no tenían ortólogos (secuencias de un gen no coincidentes en dos especies nuevas generadas a partir de una especie común) en las no patógenas.

Encontraron 58 proteínas candidatas que participaban de varios grupos funcionales, como el metabolismo del carbono, la biosíntesis de aminoácidos y otros metabolitos secundarios, la regulación de rutas metabólicas, la adhesión celular o la emisión de señales de transducción. Seleccionaron 5 proteínas previamente no caracterizadas como factores de virulencia: la putrescina carbamoiltransferasa codificada por el gen *aguB*, que participa en la ruta de la agmatina deiminasa (AgDI), regulando el pH citoplasmático y la generación de ATP; *InlH* y *InlC2*, pertenecientes a un *Loci* externo a la región

hly que codifica internalinas, las cuales facilitan el acceso del microorganismo a las células epiteliales, hepatocitos o fibroblastos; la EIIC, una subunidad del sistema fosfo-transferasa transportador selectivo de fructosa a través de la membrana bacteriana; la transcetolasa (TKT), es responsable de la producción de constituyentes celulares esenciales y juega un papel importante en la virulencia y la susceptibilidad al estrés oxidativo; y, por último, un regulador de la transcripción de la familia BglG, involucrado en la detección y consumo de hidratos de carbono de la célula infectada.

Se generaron 5 cepas mutantes de la original patógena F2365 sobre los genes que determinan las proteínas seleccionadas (*inlC2*, *eiic*, *tkl*, *aguB* y *bglG*), para estudiar si su ausencia influye significativamente en la adherencia, en el proceso de invasión celular y/o si contribuye a la virulencia.

Resultados

El crecimiento en medio de cultivo fue similar entre los distintos grupos; el impacto de las mutaciones no fue significativo sobre las curvas de crecimiento en medios BHI y Minimal Medium incubados durante 24 horas a 37°C.

Con relación a la adherencia sobre células Caco-2, las mutantes en *inlC2*, *eiic*, y *tkl* mostraron un descenso significativo de, aproximadamente, un logaritmo en esta función con respecto a la cepa original. Al complementarse las mutantes con la cepa patógena original se recuperaron las propiedades de adherencia.

La invasión celular por las cepas mutantes en *aguB*, *inlC2* y *bglG* disminuía significativamente en comparación con la cepa original. Del mismo modo que para la propiedad de adherencia, las mutantes complementadas con la cepa patógena original recuperaron las propiedades de invasión celular.

Por último, se evaluó la carga bacteriana de las cepas en el hígado y el bazo de ratones BALB/c infectados intraperitonealmente, método que permite la diseminación sistémica a través del sistema linfático y la sangre. El resultado en ratones infectados por F2365 original y por cepas mutantes complementadas fue significativamente superior al encontrado para las mutantes, salvo para la mutante en *inlC2*, lo que achacan a una posible disminución de la expresión de la proteína durante la replicación de la cepa complementada en el tejido hepático.

Finalmente, se discuten las vías metabólicas en las que participan las proteínas estudiadas, explicando razonadamente cómo influye su ausencia en los procesos estudiados, si recupera su funcionalidad después de complementar las cepas mutantes con genes WT y el papel que juegan en otros microorganismos.

Comentario

Listeria monocytogenes es un patógeno facultativo intracelular causante de la principal infección zoonótica transmitida por alimentos, y puede dar lugar a procesos clínicos de gravedad muy variable, además de tasas de mortalidad que pueden llegar al 30%, sobre todo en grupos etarios sensibles como los recién nacidos y los ancianos, y grupos con la inmunidad comprometida, incluyendo a las mujeres embarazadas.

No cabe ninguna duda del papel preponderante que actualmente desempeña la infección por *Listeria* en los brotes con origen en la industria alimentaria en nuestro ámbito. Esto se debe a la capacidad de este patógeno de adaptarse a distintos ambientes y situaciones de estrés celular como el pH ácido, temperaturas bajas o concentraciones salinas variables.

Precisamente estudios como éste son de gran utilidad para completar el análisis de los procesos que facilitan la patogenia de este tipo de microorganismos, definiendo los factores de virulencia que participan en la regulación de funciones intra o extracelulares, la adherencia, invasión y diseminación en las células del huésped, la capacidad de desarrollarse intracelularmente y de competir con el resto de la flora intestinal del huésped.

No obstante, se debe insistir para continuar el estudio de aspectos relacionados como la capacidad para atravesar la barrera placentaria y hematoencefálica, o la ventaja de *Listeria monocytogenes* sobre el microbioma intestinal. Es necesario, por tanto, identificar los factores de virulencia que expliquen los mecanismos implicados en las vías de regulación metabólica que sirvan para definir vías que logren atenuar la virulencia de este patógeno.

Dr. Fernando Fernández Sánchez

Coordinador de la Unidad de Microbiología

Hospital Costa del Sol, Marbella