

Monika Łysakowska\*<sup>1</sup>, Monika Bigos<sup>1</sup>, Małgorzata Wasieła<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Sanitarnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wpłynęło w styczniu 2012 r.

1. Wstęp. 2. Czynniki wirulencji szczepów *S. agalactiae*. 3. Toksyny GBS. 3.1.  $\beta$ -hemolizyna/cytolizyna. 3.2. Czynniki umożliwiające unikanie odpowiedzi układu odporności. 4.1. Otoczka. 4.2. Dysmutaza nadtlenkowa. 4.3. Peptydaza C5a. 4.4. Proteinaza serynowa. 5. Oporność na peptydy przeciwbakteryjne. 5.1. Białka wiążące penicyliny. 5.2. Fimbrie. 5.3. Antygen b. 6. Adhezja i wnikanie. 6.1. Białka wiążące fibrinogen. 6.2. Białko wiążące lamininę. 6.3. Białka bogate w powtórzenia seryny. 6.4. Immunogenna adhezyna GBS. 6.5. Białko  $\alpha$ C (APC). 6.6. Białko IagA. 6.7. Białko powierzchniowe Rib. 7. Inne czynniki uczestniczące w patogenezie GBS. 7.1. Hialuronidaza. 7.2. Regulator transportu metioniny (MtaR). 7.3. Zdolność do wykorzystania hemu. 8. Podsumowanie

### The structure, regulation and importance of *S. agalactiae* virulence factors

**Abstract:** The course of the disease caused by *S. agalactiae* seems to depend greatly on the presence of its diverse virulence factors. To the most important virulence factors belong: capsule, C5a peptidase, which inhibits the action of neutrophils,  $\alpha$ -C protein, laminin binding protein, and  $\beta$  hemolysin typical for invasive strains. Additionally, GBS strains may present FbsA protein which protects bacteria from opsonization and phagocytosis as well as takes part in adhesion. FbsB protein facilitates invasion to epithelial cells. Some GBS strains are able to produce surface protein inactivating chemokine, CspA. *S. agalactiae* strains naturally inhabit genital and digestive tract, but in certain circumstances may be responsible for various infections, both in neonates and adults. It suggests that these bacteria are able to adapt to different environments in infected individual and proper expression of virulence factors, in response to diverse niches, makes their survival possible. The goal of this work is to present the current knowledge concerning the virulence factors of *S. agalactiae* and, at the same time, possible reasons why these pathogens are still causing life threatening infections, especially in neonates.

1. Introduction. 2. Virulence factors *S. agalactiae* strains. 3. GBS toxins. 3.1.  $\beta$ -haemolysin/cytolysin. 3.2. CAMP factor. 4. Factors make possible escape answer of immunity system. 4.1. Capsule. 4.2. Peroxide dysmutase. 4.3. C5a peptidase. 4.4. Serine peptidase. 5. Resistance to antibacterial peptides. 5.1. Penicillin binding proteins. 5.2. Fimbriations. 5.3. Antigen b. 6. Adhesion and penetration. 6.1. Fibrinogen binding proteins. 6.2. Laminin binding proteins. 6.3. Serine repeats rich proteins. 6.4. Immunogenic GBS adhesin. 6.5.  $\alpha$ C (APC) protein. 6.6. IagA protein. 6.7. Surface Rib protein. 7. Other pathogenic GBS factors. 7.1. Hialuronidase. 7.2. Metionine transport regulator (MtaR). 7.3. Heme use ability. 8. Summary

**Słowa kluczowe:** czynniki wirulencji, regulacja, *S. agalactiae*, GBS

**Key words:** virulence factors, regulator genes, *S. agalactiae*, GBS

## 1. Wstęp

Gram-dodatnie ziarniaki *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* Group B, GBS) stanowią naturalną florę pochwy u około 25% zdrowych kobiet [12]. Pomimo znaczących postępów w leczeniu zakażeń powodowanych przez szczepy GBS, nadal notuje się przypadki zakażeń śmiertelnych w wyniku transmisji bakterii do noworodków podczas porodu. W postaci wcześniej manifestującego się zakażenia obserwuje się niewydolność oddechową i zapalenie płuc, rozwijające się w bakteriemię i szok septyczny. Późno manifestującą się infekcję charakteryzuje zakażenie krwi z wysokim ryzykiem rozwinięcia zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Szczepy *S. agalactiae* powodują również zakażenia u osób dorosłych, szczególnie u osób starszych, osłabionych, chorych na cukrzycę, czy nowotwory [21, 25]. Objawy kliniczne infekcji mogą być wtedy zróżnicowane i obejmować skórę, tkanki miękkie i zakażenia

układu moczowego, bakteriemię, zapalenie płuc, zapalenie stawów oraz zapalenie wsierdza.

Przebieg choroby powodowanej przez szczepy *S. agalactiae* wydaje się być w dużym stopniu warunkowany posiadaniem przez nie różnorodnych czynników wirulencji. Zalicza się do nich: zdolność do wytwarzania otoczki, możliwość syntezy peptydazy C5a, hamującej rekrutację neutrofilów i odpowiadającej za wiązanie fibronektyny, ułatwiającej wnikanie białko  $\alpha$ -C, białko wiążące lamininę i uczestniczące w inwazji do komórek nabłonka Lmn,  $\beta$ -hemolizynę ułatwiającą niszczenie komórek, białko powierzchniowe obecne w szczepach inwazyjnych. Ponadto szczepy GBS mogą posiadać geny dla białek wiążących fibrinogen: FbsA i FbsB. Białko FbsA chroni drobnoustrój przed opsonizacją i fagocytosą oraz sprzyja adhezji do komórek nabłonka i ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyń mózgu, tym samym ułatwia przeniknięcie bariery krew-mózg. Białko FbsB ułatwia natomiast inwazję do komórek nabłonka.

\* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Sanitarnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, pl. Hallera 1, 90-647 Łódź; tel/fax: 42 639 81; e-mail: monika.lysakowska@umed.lodz.pl

Niektóre szczepy są zdolne także do wytwarzania białka powierzchniowego CspA uczestniczącego w degradacji chemokina. Szczepy GBS naturalnie bytują w przewodzie rozrodczym i dalszych odcinkach przewodu pokarmowego, jako patogeny natomiast mogą powodować różnego rodzaju zakażenia. Sugeruje to, że bakterie te są zdolne do adaptowania się do zmieniających się warunków otoczenia, a właściwa ekspresja czynników wirulencji w odpowiedzi na środowisko bytowania umożliwia szczepom GBS przeżycie w infekowanym organizmie.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie wiedzy na temat czynników zjadliwości, które powodują, że szczepy *S. agalactiae* nadal pozostają patogenami powodującymi groźne, szczególnie u noworodków, zakażenia.

## 2. Czynniki wirulencji szczepów *S. agalactiae*

### 3. Toksyny GBS

Toksyny powodujące uszkodzenia błony ułatwiają wniknięcie drobnoustroju do komórki gospodarza, sprzyjają ich wewnątrzkomórkowemu przeżyciu i szerzeniu się w obrębie organizmu zainfekowanego. Szczepy *S. agalactiae* mogą wytwarzać dwie takie toksyny,  $\beta$ -hemolizynę/cytolizynę ( $\beta$ -H/C) i czynnik *Christie – Atkins – Munch Peterson* (CAMP).

#### 3.1. $\beta$ -hemolizyna/cytolizyna

$\beta$ -hemolizyna/cytolizyna ( $\beta$ -H/C), znana również jako CylE, jest toksyną powierzchniową, odpowiedzialną za pojawienie się charakterystycznej strefy „ $\beta$ -hemolizy” na agarze z krwią. Stwierdzono, że zdolność do syntezy toksyny była ściśle związana z pojawieniem się niedociśnienia tętniczego, jak również wzrostem śmiertelności [52, 79]. Wczesne zmiany apoptotyczne obserwowane w kardiomiocytach obejmowały podwyższoną aktywność skurczową i wzrost poziomu wapnia, co wiązało się z wejściem komórek na ścieżkę apoptozy [61]. *Hensler* i wsp. wykazali, że wydzielanie i akumulowanie  $\beta$ -H/C w czasie zakażenia noworodków powodowało zmiany w gospodarce wapniowej i prowadziło lokalnie do śmierci komórek tkanki serca, a tym samym do zaburzeń funkcji miokardium i śmierci [35]. Ponadto  $\beta$ -H/C sprzyjała inwazji szczepów GBS do komórek nabłonka i śródbłonka płuc oraz umożliwiała przenikanie bariery krew-mózg [19, 68]. Toksyna ułatwiała również rozwój niewydolności wątroby i indukowała odpowiedź zapalną, która przyczyniała się do powstania zaburzeń neurologicznych [35]. Wykazano, że  $\beta$ -H/C uszkadzała komórki śródbłonka mózgu oraz makrofagi [79]. Cytolizyna ta przyczynia się zatem na wiele sposobów do pojawienia się objawów wczesnego zakażenia szczepami *S. agalactiae*. Niektóre leki, np. fosfolipid DPPC, które hamują cytotoksyczną aktywność

$\beta$ -H/C, mogą zapobiegać pojawieniu się zaburzeń funkcji serca i innych organów w czasie zakażeń [35].

*SPELLERBERG* i wsp. zidentyfikowali klaster genów konieczny do prawidłowego działania cytolizyny *S. agalactiae* [97]. Składa się on z przynajmniej 12 otwartych ramek odczytu, należących do operonu *cyl* i obejmuje białka transporterowe ABC (*cylA*, *cylB*), gen białka nośnikowego (*acpC*), geny białek związanych z syntezą kwasów tłuszczowych (*cylD*, *cylG*, *cylZ*, i *cylI*), aminometylotransferazy (*cylF*) i glikozyltransferazy (*cylJ*) [27]. Ponadto zawiera geny specyficzne dla szczepów GBS, w tym *cylE* będący genem strukturalnym toksyny [74, 97]. Inne geny tego operonu, *cylA* (komponenta wiążąca ATP), *cylB*, *cylJ* i *cylK*, uczestniczą w potranslacyjnej modyfikacji i wydzielaniu  $\beta$ -H/C [27, 30]. Dzięki inaktywacji poszczególnych genów operonu (*acpC*, *cylZ*, *cylA*, *cylB*, *cylE*, *cylF*, *cylI*, i *cylK*) stwierdzono, że większość mutantów charakteryzował fenotyp hypohemolityczny, poza mutantem *cylE*, który okazał się niehemolityczny [30].

Wykazano, że synteza  $\beta$ -H/C jest związana z produkcją pomarańczowego pigmentu, który jest odpowiedzialny za oporność bakterii na reaktywne formy tlenu (ROS) [52]. Uczestniczą w tym procesie produkty genów *cylJ* i *cylK*. Stwierdzono, że delecja genów struktury  $\beta$ -H/C (*cylE*) znosiła ekspresję pigmentu [23].

Dane wskazują, że szczepy *S. agalactiae* regulują ekspresję  $\beta$ -hemolizyny i związanego z nią pigmentu przez systemy transdukcji sygnału (*signal transduction systems*, STS). Systemy te odpowiadają na sygnały zewnętrzne i regulują funkcje czynników transkrypcji związanych z DNA. Najpowszechniejszymi STS u bakterii są systemy dwuczęściowe (*Two-component systems*, TCS), składające się ze związanego z błonami sensora kinazy histydynowej (HK) rozpoznającego sygnał zewnętrzny i fosforylującego pokrewne regulatory odpowiedzi (*Response regulators*, RR). Ta fosforylacja zwykle zmienia powinowactwo DNA do wiązania RR i zmienia ekspresję genów, by umożliwić adaptację do zmian środowiskowych. W przypadku szczepów *S. agalactiae* tylko rola czterech z 20 badanych TCS (*CovR/CovS*, *DltR/DltS*, *RgfC/RgfA* i *CiaR/CiaH*) jest poznana [37, 45, 76, 98, 104, 105]. Szczepy GBS kodują ponadto przynajmniej sześć regulatorów transkrypcji, które regulują ekspresję genów w odpowiedzi na zmiany w cytozolu, czy środowisku zewnętrznym [106].

Stwierdzono, że TCS hamujący transkrypcję genów *cyl*, w tym *cylE* i aktywujący ekspresję CAMP, składa się z RR, *CovR* i białek sensorowych HK oraz *CovS*. *CovR* hamował transkrypcję przez wiązanie się do promotora  $\beta$ -H/C (*PcylX*) [77]. *CovS* fosforylował *CovR*, co wzmacniało represję  $\beta$ -H/C [50]. Wykazano również, że kinaza seryna/treonina *Stk1*, może fosforylować *CovR*, obniżając fosforylację asparagianinu i wiązanie promotora. W konsekwencji *Stk1* hamowała represję  $\beta$ -H/C przez *CovR* i aktywację czynnika CAMP [50, 77].

### 3.2. Czynniki CAMP

Czynnik CAMP jest białkiem wydzielniczym, kodowanym przez gen *cfb*, zdolnym do niszczenia błon komórkowych [71]. Białko zostało po raz pierwszy opisane przez Christie, Atkins i Munch-Peterson w 1944 roku, jako powodujące liżę czerwonych krwinek baranich w kombinacji z toksyną *Staphylococcus aureus* [36].

Wykazano, że podanie częściowo oczyszczonego czynnika CAMP powodowało zgon królików, a w połączeniu z subletalną dawką szczepów *S. agalactiae* indukowało sepsę i śmierć u myszy [40]. Mogło to wynikać z mechanizmu działania toksyny, która oligomeryzuje a następnie tworzy pory w komórkach docelowych wiążąc się do rdzenia cukrowego białek połączonych z GPI (glikozylofosfatydyloinozytol) [46]. Jednakże mutanty delecyjne nie były atenuowane [36], co sugeruje że czynnik CAMP nie jest konieczny w patogenezie zakażeń szczepami GBS (w przypadku serotypów Ia, V, III nie obserwowano ekspresji CAMP) [46, 77]. Jest również prawdopodobne, że zdolność szczepów GBS do syntezy  $\beta$ -H/C kompensuje brak CAMP w czasie infekcji. Zatem CAMP mógłby być istotny dla szczepów GBS w przypadku tych nisz, gdzie aktywność  $\beta$ -H/C jest zmniejszona, np. surfaktantu ludzkich płuc.

Stwierdzono, że szczepy GBS regulują  $\beta$ -H/C i czynnik CAMP dzięki CovR/S i Stk1. Wiążące pośrednio promotor genu czynnika CAMP (*cfb*) białko CovR aktywowało ekspresję CAMP u szczepów *S. agalactiae* [37, 38, 46]. Fosforylacja asparaginianu CovR przez kinazę CovS wzmacniała działanie CovR prowadząc do wzmożonej aktywacji CAMP, podczas gdy fosforylacja treoniny CovR przez Stk1 obniżała pośredniczoną przez CovR aktywację czynnika CAMP [77].

### 4. Czynniki umożliwiające unikanie odpowiedzi układu odporności

Szczepy GBS kodują liczne czynniki, które zapobiegają jego rozpoznaniu przez mechanizmy obronne gospodarza bądź zapewniają przeciw niemu oporność.

#### 4.1. Otoczka

Szczepy GBS mogą posiadać 9 serotypów otoczkowych: Ia, Ib i II–IX. Wielocukier otoczkowy jest jednym z głównych czynników zjadliwości szczepów GBS, ale również celem dla przeciwciał opsonizujących [15]. Jako, że otoczka zawiera kwas sjałowy, organizm zakażony ma trudności w rozpoznaniu i eliminacji bakterii. Wykazano, że obecność otoczki zapobiega odkładaniu czynnika C3 i fagocytozie [59]. Stwierdzono także, że transfer przez łożysko przeciwciał matki chronił noworodka przed inwazyjnym zakażeniem szczepami GBS,

a noworodki urodzone przez matki z niskim poziomem przeciwciał przeciw otoczkowym były bardziej narażone na zakażenia tymi bakteriami [2].

Strukturalne zróżnicowanie wielocukrów budujących otoczkę jest związane z różnorodnością genetyczną jej locus, najprawdopodobniej osiąganą w wyniku horyzontalnego transferu genów [60]. Zarówno blisko, jak i dalece spokrewnione klony mogą posiadać geny kodujące poszczególne typy otoczkowe, co sugeruje wymianę genów otoczkowych *in vivo* [26]. Fragmenty DNA otaczające locus otoczki są wysoce konserwatywne pomiędzy izolatami *S. agalactiae* [60], zatem rekombinacja homologiczna w tych regionach może przebiegać niezależnie od rekombinacji w innych regionach genomu bakterii. Wykazano, że obszar otaczający locus otoczki wykazuje dużą częstość zdarzeń rekombinacji, w tym dużych (334 kb) fragmentów DNA [9]. Sugeruje się, że przełączanie genów otoczki (*capsular switching*) przyczynia się do powstania nowych kombinacji serotyp-genotyp, jednocześnie umożliwiając unikanie presji selekcyjnej. Martin i wsp. udowodnili występowanie zmian otoczki u szczepów *S. agalactiae* i wykazali, że wymiana całych locus była bardziej powszechna niż przełączanie specyficznych genów otoczki. Stwierdzili zachodzenie *capsular switching* wśród szczepów GBS, ale z mniejszą częstością niż sądzono wcześniej [60].

Jak dotąd niewiele jest wiadomo o regulacji CPS w trakcie zakażenia. Wykazano, że CPS bierze udział w adhezji bakterii i wnikaniu do komórek nabłonka i śródbłonka. Sugeruje się, że szczepy *S. agalactiae* mogą regulować ekspresję genów otoczki w odpowiedzi na warunki środowiska zewnętrznego. Różnice w czasie podziału, czy zmiany w tempie wzrostu mogą wpływać na obecność CPS i przyleganie oraz wnikanie szczepów GBS do nabłonka układu oddechowego [56]. Stwierdzono, że RogB, regulator transkrypcji należący do rodziny białek RofA-like reguluje transkrypcję genów *cps* [31]. Wydaje się, że RogB jest represorem, bądź negatywnym regulatorem CPS, ponieważ transkrypcja pierwszego genu w operonie *cpsA* wzmagala się przy braku RogB w przypadku serotypu III. Również CovR/S nieznacznie regulował transkrypcję *cps* w sposób zależny od szczepu [77].

Szczepy GBS serotypuje się na podstawie różnic w budowie otoczki, dalsza charakterystyka zróżnicowania GBS opiera się już na użyciu metod genotypowych. Nie stwierdzono całkowitej korelacji pomiędzy typem otoczkowym a określonym przez MLST (Multi-locus Sequence Typing) [8]. Co więcej, porównawcze analizy genomów izolatów o różnych serotypach wykazały, że niekiedy posiadają one więcej takich samych genów niż szczepy tego samego serotypu [105]. Sugeruje to, że blisko, jak i odległe spokrewnione klony mogą posiadać geny kodujące poszczególne typy otoczkowe, zatem może zachodzić ich wymiana *in vivo* [57]. Zmianom

otoczki w wyniku rekombinacji homologicznej sprzyjałaby organizacja *locus* kodującego geny syntezy wielocukrów otoczkowych (*cps*), gdzie wysoce zmienny region określający serotyp (*cpsGcpsK*) jest otoczony genami konserwatywnymi, a to umożliwia wymiany centralnej części operonu *cps* [57].

#### 4.2. Dysmutaza nadtlenkowa

Dzięki oporności na rodniki tlenowe syntetyzowane przez gospodarza bakterie mogą przeżyć w zakażonym organizmie. Szczepy GBS kodują zależną od  $Mn^{2+}$  dysmutazę nadtlenkową, SodA, zapewniającą oporność na rodniki tlenowe, które mogą uszkadzać DNA, RNA, białka, czy lipidy komórek bakteryjnych [65].

Dysmutazy przekształcają rodnik tlenowy, bądź tlen zjonizowany ( $O_2^-$ ) do tlenu cząsteczkowego ( $O_2$ ) i  $H_2O_2$ , które są następnie metabolizowane przez katalazy, czy peroksydazy. Tym samym enzymy te umożliwiają patogenom uniknięcia działania stresu oksydacyjnego w czasie wybuchu tlenowego indukowanego fagocytowaniem bakterii [65]. Stwierdzono, że mutanty delecyjne *S. agalactiae sodA* były znacząco bardziej wrażliwe na działanie makrofagów oraz wykazywały obniżoną przeżywalność w krwi i mózgu myszy [73], ale nie w wątrobie, czy śledzionie. Sugeruje to, że zdolność do wytwarzania dysmutazy umożliwia drobnoustrojom przeżycie w specyficznych niszach. Dysmutaza SodA wydaje się odgrywać istotną rolę we wczesnej fazie infekcji, kiedy umożliwia pojawienie się dużej ilości bakterii we krwi, co sprzyja inwazji do mózgu, przetrwaniu w śledzionie i wątrobie.

Transkrypcja *sodA* u szczepów GBS jest pozytywnie regulowana przez RovS. W przypadku mutanta delecyjnego *rovS* obserwowano ponad dwukrotne zmniejszenie ekspresji tego genu [87].

#### 4.3. Peptydaza C5a

Peptydaza C5a (ScpB) paciorkowców jest związana z powierzchnią komórki bakteryjnej proteinazą serynową, zdolną do inaktywacji komponentu C5a ludzkiego dopełniacza. Peptydaza ScpB, kodowana przez gen *scpB* [13] była po raz pierwszy zsekwencjonowana w szczepie serotypu II [14], obecnie stwierdza się przynajmniej 96% zgodności w sekwencji aminokwasowej dotąd zsekwencjonowanych peptydaz [14]. Sugeruje się zachodzenie transferu horyzontalnego genu peptydazy C5a pomiędzy gatunkami paciorkowców ropotwórczych [28]. Konserwatywna sekwencja, silna ekspresja i lokalizacja na powierzchni komórki czyni to białko dobrym kandydatem na szczepionkę [13, 90]. Wykazano, że podawanie szczepionek zawierających ScpB, bądź koniugaty ScpB-CPS powodowało eradykację szczepów *S. agalactiae* z płuc [13].

Jako, że C5a jest czynnikiem ważnym dla rekrutacji neutrofilów, jego degradacja zaburza tę funkcję [100].

W oparciu o użycie myszy *knockout* syntetyzujących ludzki C5a, stwierdzono, że aktywność peptydazy ScpB specyficznie inaktywuje ludzkie, ale nie mysie C5a [7]. ScpB może także ułatwiać wiązanie się szczepów GBS ludzkich komórek nabłonka i białek macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix*, ECM) [5]. Wykazano, że zdolność ScpB do wiązania fibronektyny była niezależna od jej aktywności jako peptydazy, ponieważ polimorfizm genu wpływał na aktywność peptydazy, ale nie na zdolność wiązania fibronektyny [102].

W czasie fazy wzrostu obserwowano nasilenie transkrypcji genu *scpB*, jak również wiązania do fibronektyny. Wykazano, że transkrypcja tego genu jest pod wpływem dwóch niezależnych TCS. Pierwszym z nich jest RgfC, sensor HK. U mutantów delecyjnych *rgfC* obserwowano zwiększenie wiązania się do fibronogenu [98]. Nie wiadomo jednak, czy RgfA pośrednio wiąże się do promotora *scpB* w celu represji jego transkrypcji. Sugeruje się natomiast zależność od fazy wzrostu represję ScpB przez RgfC/A i RgfB [98].

Kolejnym TCS, który reguluje ekspresję ScpB jest CovR/S. Ji a n g i wsp. zaobserwowali 11–30-krotny wzrost transkrypcji genu *scpB* u mutantów delecyjnych *covR* serotypów Ia i V *S. agalactiae* [37]. Sugeruje to rolę CovR, jako represora ScpB, podobnie zresztą jak  $\beta$ -H/C. Stwierdzono, że ScpB nie stanowiło jednak części konserwatywnego regulonu CovR [38].

#### 4.4. Proteinaza serynowa

Z powierzchnią komórki jest również związane inne białko, proteinaza serynowa CspA o masie 153-kDa, kodowana przez gen *cspA*, otoczony genami *cepA* i *cepI* [33]. Wydaje się, że miejsca od 1 do 44 białka stanowią region sygnałowy CspA (SS) [94] a D180 i S575 są jego miejscami katalitycznymi [10].

Szczepy GBS mogą dzięki tej proteinazie degradować komponenty ECM. Cięcie fibrynogenu (cięciu ulega podjednostka A), czy fibryno-podobnych składowych, utrudnia rozpoznanie bakterii i fagocytozę. Szczepy nie syntetyzujące proteinazy CpsA są podatne na działanie neutrofilów i charakteryzuje je obniżona wirulencja [33]. Wykazano, że CpsA degradują chemokiny, takie jak onkogenny czynnik wzrostu- $\gamma$ , aktywujący neutrofile peptyd-2 i białko chemotaktyczne dla granulocytów-2 oraz znoszą ich zdolność do rekrutacji i aktywacji neutrofilów [10]. Stwierdzono, że szczepy GBS syntetyzowały jednocześnie proteinazy CspA oraz C5a, by unikać, bądź opóźnić aktywację neutrofilów. CspA prawdopodobnie nie niszczy IL-8, pomimo, że jej struktura jest podobna do innych ciętych przez CspA chemokin [109]. Sugeruje się, że mogą to uniemożliwiać niewielkie różnice struktury, bądź specyficzne aminokwasy w IL-8.

Obie proteinazy syntetyzowane przez szczepy *S. agalactiae* (ScpB i CspA) mają motyw kotwiczący LPXTG, który jest konieczny do ukierunkowania tych enzymów

na ścianę komórkową przez sortazę, SrtA [20]. Pomimo, że szczepy delecyjne GBS *srtA* cechowała zmieniona lokalizacja ScpB, zmniejszona ilość pili i zdolność do adhezji, nie były one mniej zdolne do powodowania zakażeń ogólnoustrojowych [44].

## 5. Oporność na peptydy przeciwbakteryjne

### 5.1. Białka wiążące penicyliny

Bakteryjne białka wiążące penicyliny (PBPs) uczestniczą w syntezie peptydoglikanu i wykazują aktywność przeciw antybiotykowi  $\beta$ -laktamowym [110]. Jak dotąd nie stwierdzono oporności na penicyliny wśród szczepów GBS, jednakże szczepy o obniżonej wrażliwości były już opisywane [66]. Szczepy GBS z delecją genu *ponA*, który koduje PBP1a, okazały się podobnie wrażliwe na penicylinę do szczepów dzikich. Mutant *ponA* był atenuowany w modelu sepsy u noworodków i jednocześnie eliminowany szybciej z płuc noworodków szczurzych. Wykazywał podwyższoną wrażliwość na zabijanie przez neutrofile i makrofagi alweolarne (niezależnie od obecności otoczki) [39], co wynikało z faktu, że mutanty *ponA* GBS były bardziej wrażliwe na różne rodzaje AMPs [32]. Ponadto wykazano, że inne z białek, zmienione PBP 2X odpowiadały w dużym stopniu za zmniejszoną wrażliwość szczepów *S. agalactiae* na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, co wynikało ze zmiany niektórych aminokwasów w PBP [42]. Podstawienia nie dotyczyły regionów konserwatywnych białek [67]. Jak dotąd systemy regulatorowe odpowiedzialne za transkrypcję *ponA* nie zostały zidentyfikowane.

### 5.2. Fimbrie

Badania wykazują, że szczepy GBS kodują fimbrie, które pośredniczą w oporności na działanie AMPs i uczestniczą w przyleganiu do komórek gospodarza [55]. Fimbrie typów 1, 2a i 2b [82] są kodowane przez trzy loci. U szczepów dotąd badanych stwierdzano występowanie jednego lub dwóch z nich. Fimbrie typu 2a, mogące występować w siedmiu wariantach sekwencji aminokwasowych, wydają się typem najpowszechniej występującym (u ponad 70% analizowanych szczepów), natomiast dwa pozostałe typy stwierdzono u 27% szczepów GBS [58].

Wykazano, że tylko typ fimbrii 2a uczestniczy w tworzeniu biofilmu u izolatów *S. agalactiae* [78]. Sugeruje się, że w przypadku braku obecności fimbrii typu 2a, ekspresji ulega inny czynnik wirulencji o podobnych funkcjach i kompensuje ich brak. Wszystkie mutacje, które znoszą ekspresję fimbrii (delecje w genach białka, czy genach kodujących sortazę) bądź utrudniające wiązanie się ich do ściany komórkowej (delecje w genach AP2, *srtC-1*, *srtA*) zapobiegają formowaniu się biofilmu.

Natomiast inaktywacja białka AP1, jednej ze składowych fimbrii 2a, podobnie jak utrata AP1-specyficznej sortazy-C (*SrtC-2*), nie wpływa na zdolność do adhezji i agregacji szczepów GBS [82].

Zaobserwowano, że delecja całego genu *pilA* (homolog AP1 u szczepu GBS 515) powodowała utratę zdolności do syntezy biofilmu, natomiast delecja genu *pilC* (homolog AP2 u GBS 515) nie wpływała na tworzenia biofilmu [43]. Powodem tych rozbieżnych wyników może być fakt, że szczepy GBS 515 i GBS NEM316 posiadają fimbrie 2a należące do różnych wariantów, które strukturalnie mogą różnić się w zdolności do agregacji i adhezji [58]. Szczepy GBS pozbawione *pilB* wykazywały obniżony poziom wirulencji i zwiększoną podatność na fagocytozę i AMPs [55]. PilC natomiast nie wykazywały roli kotwiczącej swojego homologa AP2-2a i w odróżnieniu od AP2-2a, były wyrażane na powierzchni komórki bakteryjnej [78].

Wszystkie trzy typy fimbrii wzbudzały syntezę przeciwciał a szczepionki oparte na ich komponentach zapewniały ochronę przed zakażeniem powodowanym przez szczepy GBS u badanych myszy [58].

Wydaje się, że gen *RogB* reguluje dodatnio ekspresję fimbrii u szczepów GBS, ponieważ transkrypcja PI-2a była obniżona przy jego braku [20]. Ze względu na fakt, że *RogB* nie jest fizycznie związany z PI-1, czy PI-2b, jest prawdopodobne, że te loci nie są przez niego regulowane [20, 69]. Stwierdzono także wpływ innego genu regulatorowego na ekspresję fimbrii *S. agalactiae*. Mutanty nie mające genu *rga* posiadały znacząco mniej fimbrii na powierzchni komórek [88].

### 5.3. Antygen b

Antygen b będący składową białka powierzchniowego C, ma możliwość wiązania przeciwciał IgA oraz czynnika H komplementu [1]. Jest on kodowany przez gen *bac* zlokalizowany na wyspie patogenności [17]. Wykazano, że gen *bac* występuje u 17.5% izolatów *S. agalactiae* [84]. U szczepów *S. agalactiae* 98-D60C i A909 został ostatnio zidentyfikowany dwuskładnikowy system regulatorowy kodujący sensor kinazy histydynowej (gen *sak188*) i wiążący DNA regulator odpowiedzi (gen *sak189*) [17, 104]. Stwierdzono, że transkrypcja genu *bac* i ekspresja antygeny b były kontrolowane przez regulator odpowiedzi *Sak189* a regulacja odbywała się na poziomie transkrypcji. Stwierdzono ponadto, że *Sak189*, ale nie *Sak188* wpływał na wirulencję *S. agalactiae* *in vivo* [83].

## 6. Adhezja i wnikanie

Szczepy GBS przylegają i wnikają do różnych komórek gospodarza, w tym do komórek nabłonka pochwy, nabłonka i śródbłonka płuc, czy komórek bariery krwi-mózg. Wiąże się to z początkowym wiązaniem się

bakterii do białek takich, jak fibrinogen, fibronektyna, laminina, które następnie ułatwiają późniejsze interakcje z powierzchniowymi integrynymi i wniknięcie do komórek gospodarza [54].

### 6.1. Białka wiążące fibrinogen

Ważną rolę w patogenezie zakażeń powodowanych przez szczepy *S. agalactiae* odgrywiają adhezyny MSCRAMMs (*Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules*), które wiążą się specyficznie do fibrynogenu, fibronektyny, kolagenu, lamininy. Fibrinogen, jako ważna składowa surowicy krwi, jest często miejscem przyłączenia dla adhezyn bakteryjnych. Wykazano, że wiązanie do fibrynogenu u szczepów *S. agalactiae* było pośredniczone przez dwa białka FbsA i FbsB [91]. FbsA to białko związane z powierzchnią komórki, kodowane przez niewiele szczepów GBS (np. serotyp Ia, III), podczas gdy FbsB było znajdowane u wszystkich szczepów dotąd zsekwencjonowanych [104].

Wykazano, że białko FbsA zawierało peptyd sygnałowy, region powtórzeń i C-koniec z motywem LPXTG typowy dla białek MSCRAMMs. Natomiast białko FbsB nie posiadało takiego motywu [31, 81], co sugerowało, że jest to białko wydzielane a nie związane z powierzchnią komórki. Pomimo, że obie adhezyny wiązały fibrinogen, nie cechowała ich homologia sekwencji. Podczas, gdy białko FbsA składało się z powtórzeń (od 3–30) 16-aminokwasowych odpowiedzialnych za wiązanie fibrynogenu (jedno powtórzenie jest zdolne go związać) [91], białko FbsB ich nie posiadało. Co więcej A r i b a m i wsp. stwierdzili, że adhezyna pochodząca z ludzkiego szczepu *S. agalactiae* NEM316, typu III, składała się z 635 aminokwasów (73 kDa), a jej region terminalny C nie wskazywał podobieństwa do innych już poznanych [16, 31].

Mutanty delecyjne GBS FbsA wykazywały obniżoną zdolność do wiązania ludzkiego fibrynogenu i większą wrażliwość na fagocytozę niż szczepy dzikie [91]. Mutanty delecyjne GBS FbsB nie były atenuowane pod względem wiązania fibrynogenu, ale zdolność inwazji do komórek nabłonka płuc była znacznie obniżona [50]. Sugeruje to, że białko FbsA pośredniczy w adhezji, a adhezyna FbsB promuje wniknięcie szczepów *S. agalactiae* do komórek gospodarza.

Regulacja ekspresji białka FbsA jest dokonywana przez RogB, RovS i CovR/S. Wykazano, że RogB pozytywnie regulowało transkrypcję genu *fbsA* [31], a mutanty GBS nie posiadające RogB wykazywały obniżoną transkrypcję *fbsA* i wiązanie fibrynogenu. Drugie z białek regulatorowych, RovS wiązało się bezpośrednio do promotora *fbsA* i negatywnie regulowało jego transkrypcję [87]. Mutanty *rovS* cechowała umiarkowanie większa zdolność wiązania fibrynogenu, jak i adhezji do komórek nabłonka płuc. Dodatkowo ekspresja RogB

była również obniżona u mutantów *rovS*, chociaż RovS nie wiązał się bezpośrednio do regionu promotorowego *rogB* [87]. Białko FbsA było także negatywnie regulowane przez system CovR/S. Jak stwierdzono, transkrypcja *fbsA* wzrastała 4.6-krotnie przy braku regulatora CovR/S u serotypu III GBS, kodującego zarówno RogB, jak i RovS.

S a m e n i wsp. opisali ostatnio jeszcze jeden gen kodujący regulator transkrypcji ważny dla GBS, *rga*. Po jego delecji bakterie wykazywały obniżoną ekspresję genów *srr-1* i *pilA* (kodujących glikoproteinę bogatą w powtórzenia serynowe i białko fimbrii) oraz lekko wzmoczoną ekspresję genu *fbsA*, przy czym specyficznie regulator ten wiązał się do genów *fbsA* i *pilA*. Ponadto zaobserwowano zmniejszenie zdolności do wiązania się bakterii nie posiadających genu *rga* do komórek nabłonka HEp-2, komórek ludzkiej keratyny 4, natomiast zwiększoną zdolność wiązania się do komórek linii A549 i ludzkiego fibrynogenu [88].

### 6.2. Białko wiążące lamininę

Adhezja szczepów GBS do lamininy komórek gospodarza jest pośredniczona przez białko wiążące lamininę Lmb. Stwierdzono, że jest ono lipoproteiną wykazującą homologię do rodziny białek Lra1 odpowiedzialnych za adhezję i transport metali u bakterii Gram-dodatnich [28]. Gen *lmb* i zlokalizowany powyżej gen *scpB* oraz ORF2 są wspólnie transkrybowane [22]. Region międzygenowy *scpB-lmb* może zawierać dwa typy fragmentów ruchomych (*mobile genetic elements*, MGEs): GBSi1 lub IS1548 [29, 53], a są one zlokalizowane odpowiednio 97-bp i 9-bp powyżej promotora genu *lmb* [29].

Wykazano, że istotnie klinicznie szczepy GBS linii CC17 posiadały GBSi1, linii CC19-IS1548, podczas gdy szczepy CC23 nie posiadały żadnego MGE [34]. W obrębie linii CC19 wszystkie szczepy o serotypie III miały IS1548 a szczepy serotypu II GBSi1 [85].

Stwierdzono, że mutanty delecyjne *lmb* GBS wykazywały obniżoną zdolność do adhezji do ludzkiej lamininy i do komórek mikronaczyni śródbłonka mózgu [96, 103]. Pomimo, że uważa się że Lmb promuje kolonizację i translokację GBS do strumienia krwi, mechanizmy tych procesów nie zostały poznane. Obecność regionu niekodującego o dł. około 200 bp pomiędzy *lmb* i *scpB* u serotypów Ia i III sugeruje jednak, że nie są one podobnie regulowane u tych szczepów.

### 6.3. Białka bogate w powtórzenia seryny

Białka bogate w powtórzenia serynowe (Srr) występujące u szczepów GBS, to kolejne czynniki wirulencji mogące odpowiadać za rozwój zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [95]. Są to wysoce glikozylowane, zlokalizowane na powierzchni białka, które

uczestniczą w adhezji [101]. Stwierdzono, że w wyniku potranslacyjnych zmian białko Srr-1 wykazuje podobieństwo do wzoru glikozylacji GspB u *S. gordonii* [95]. Mechanizm tego procesu nie jest znany, ale prawdopodobnie uczestniczy w nim kilka genów glikozylotransferaz usytuowanych w locus *srr1*. Wykazano, że białka te są zbudowane z pojedynczego peptydu o długości około 50 aminokwasów, regionu Srrs i motywu wiążącego ścianę komórkową LPXTG [92]. Wysoce konserwatywne białko Srr-1 wydaje się rozpowszechnione pomiędzy szczepami GBS, natomiast białko Srr-2 występowało u szczepów serotypu III i ST-17. Wraz z seryną w Srr-2 w regionach powtórzeń pojawiały się następujące aminokwasy: walina, izoleucyna, treonina asparagina, kwas glutaminowy, natomiast w białku Srr-1 alanina, treonina i metionina [92].

Geny inwazyjności pośredniczą w przenikaniu do komórek, np. komórek nabłonka płuc [19], zatem mogą być istotne we wczesnych etapach zakażenia u noworodków. Stwierdzono, że występujące powszechnie białko Srr-1 wiązało się do ludzkiej keratyny oraz umożliwiała adhezję do komórek HEP2. Mutant delecyjny *srr-1* wykazywał zmniejszoną zdolność do adhezji o 75%, ale nie do inwazji do komórek linii HEP2 [86]. Jak wykazano, szczepy GBS kodujące Srr-2 były bardziej wirulentne niż szczepy Srr-1 w przypadku sepsy u noworodków [92].

#### 6.4. Immunogenna adhezyna GBS

Adhezja jest również ułatwana przez immunogenną adhezynę (BibA) [89]. Szczepy GBS mogą kodować cztery formy białka BibA, związane ze ścianą komórkową, jak i wydzielane na zewnątrz komórki.

Jak dotąd, nie znaleziono powiązania pomiędzy występowaniem poszczególnych typów BibA a postacią choroby, czy nosicielstwem, jednakże zaobserwowano pewne zależności pomiędzy serotypami drobnoustrojów a typem białka BibA występującym u szczepów GBS [89]. Serotyp Ia znajdowano wyłącznie u szczepów posiadających wariant II białka BibA, podczas gdy szczepy serotypu Ib miały tylko wariant III białka BibA. Szczepy GBS należące do serotypu II posiadały głównie wariant III białka BibA, natomiast wśród szczepów serotypu III występowały warianty I i IV białka BibA. Wariant IV białka BibA występował wyłącznie wśród szczepów GBS linii ST-17, która powodującą często zakażenia u noworodków. Kilka szczepów GBS reprezentujących serotyp IV posiadało wariant II białka BibA, natomiast szczepy serotypu V zawierały głównie wariant III białka BibA [89].

W przypadku serotypu V, białko BibA ułatwiała adhezję szczepów GBS do ludzkich komórek szyjki macicy i nabłonka płuc, wiązało się do regulatora klasycznego komplementu znanego jako białko wiążące C4 i odpowiadało za oporność na fagocytozę [89]. Wyka-

zano, że szczepienie myszy białkiem BibA daje odporność na zakażenie szczepami GBS. Niestety niemalże połowa badanych szczepów nie wyrażała tego białka na powierzchni komórek, zatem w tym przypadku ich zdolność do indukcji odporności była niska.

Stwierdzono, że gen *bibA* znajduje się pod wpływem negatywnej regulacji systemu CovS/CovR [45]. Jak dotąd, nie wiadomo jednak, jakie bodźce środowiskowe włączają aktywację tego systemu u szczepów GBS. Sugeruje się, że poziom ekspresji białka BibA na powierzchni komórki obserwowany *in vitro* jest niższy niż w zakażonym organizmie, co pozostaje zgodne z badaniami M e r e g h e t t i i wsp., którzy stwierdzili, że ekspresja białka BibA u szczepów izolowanych z krwi jest podwyższona w porównaniu do bakterii namnażanych *in vitro* [63].

#### 6.5. Białko $\alpha$ C (APC)

Ważnym czynnikiem zjadliwości szczepów *S. agalactiae* jest kodowane przez gen *bca* białko powierzchniowe  $\alpha$ -C (ACP), odpowiedzialne za inwazję do nabłonka szyjki macicy [3]. Jego aktywność wiąże się z liczbą powtórzeń tandemowych fragmentu 82-aminokwasowego, a zmienna długość tych fragmentów wynika z zachodzenia rekombinacji niezależnej od *recA* [72].

Stwierdzono, że białko ACP ulega ekspresji na powierzchni serotypów Ia, Ib I i II *S. agalactiae*, rzadko natomiast w przypadku serotypu III GBS [64]. Białko ACP ułatwiała wnikanie do komórek gospodarza w wyniku interakcji z glikozaminoglikanami komórek gospodarza [4] bądź dzięki wiązaniu się do  $\alpha$ 1 $\beta$ 1-integrzyn na powierzchni komórek nabłonka [6].

Mechanizmy regulacji białka ACP pozostają niejasne. Wykazano dotąd, że delecja systemu regulacyjnego *covR/S* powodowała nieznaczny wzrost, bądź brak zmian ekspresji ACP [37, 45]. Regulacja transkrypcji odbywała się także w wyniku zmian w obrębie krótkich sekwencji powtarzalnych usytuowanych powyżej regionu -35 promotora [75], na drodze błędnego parowania w wyniku przesunięcia nici. Sugeruje się, że oba te procesy mogą powodować selekcję i ekspansję zmienionych izolatów [41].

#### 6.6. Białko IagA

Białko IagA, kodowane przez gen *iagA*, zostało zidentyfikowane jako ważny czynnik wirulencji w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych powodowanych przez szczepy GBS. Wykazano, że mutanty delecyjne *iagA* szczepów *S. agalactiae* powodowały bakteriemie u myszy podobnie jak u szczepów dzikich [18], jednakże wykazywały obniżoną zdolność do penetracji bariery krew mózg i były odpowiedzialne za mniejszy odsetek zakażeń śmiertelnych *in vivo* [18].

Stwierdzono, że białko IagA jest glikozylotransferazą (DGlcDAG), umożliwiającą wbudowywanie kwasu lipoteichojuowego (LTA) w osłony komórkowe bakterii. W wyniku delecji genu *iagA*, wiązanie LTA było zaburzone i obserwowano jego uwalnianie do pożywki. Doran i wsp. sugerowali, że utrata zdolności syntezy DGlcDAG powodowała nie tylko usunięcie z powierzchni komórek GBS inwazyjnej IagA, ale również uwalniane LTA mogło blokować mechanizmy wnikania bakterii to ludzkich komórek mikronaczyń śródbłonka mózgu [18].

### 6.7. Białko powierzchniowe Rib

Białko powierzchniowe Rib, o tandemowo powtarzających się sekwencjach [107], jest znajdowane u znaczącego odsetka szczepów powodujących zakażenia inwazyjne noworodków [62, 84, 99]. Obecność tego białka, kodowanego przez gen *rib*, jest wykorzystywana przy serotypowaniu szczepów GBS [47, 51]. Jak wykazano, szczepienia myszy preparatami z oczyszczonego białka Rib chroniło przed zakażeniem śmiertelnym szczepem o podobnym białku [51]. Stwierdzono, że niskie stężenia przeciwciał przeciw białku Rib u noworodków mają związek z postacią inwazyjną zakażenia przez szczepy GBS wyrażające te białka. Sugeruje to, że naturalne przeciwciała przeciw białku Rib szczepów GBS mogą chronić przed zakażeniami szczepami *S. agalactiae* [51].

## 7. Inne czynniki uczestniczące w patogenezie GBS

### 7.1. Hialuronidaza

Wydzielnicza liaza, proteaza (HlyB), kodowana przez gen *hlyB*, jest czynnikiem patogenności [49], który umożliwia szerzenie się szczepów GBS podczas infekcji. Hialuronidaza degradowuje kwas hialuronowy, budującą tkankę łączną i układ nerwowy oraz znajdujący się w łożysku, płynie owodniowym i płucach [48]. Stwierdzono, że szczepy *S. agalactiae* syntetyzujące większe ilości hialuronidazy cechowały się większą zjadliwością w porównaniu do szczepów niewiele jej syntetyzujących [80].

Działanie hialuronidazy syntetyzowanej przez szczepy *S. agalactiae* badano na modelu rodzinnej hypercholesterolemii. Wykazano, że HlyB powodowała zniszczenie płytki miażdżycowej w badaniach *in vitro*, natomiast w badaniach *in vivo* spowalniała jej tworzenie [70].

### 7.2. Regulator transportu metioniny (MtaR)

Gen *mtaR* *S. agalactiae*, wykazujący podobieństwo do rodziny regulatorów transkrypcji LysR, jest regulatorem transportu metioniny. Wykazano, że inaktywacja

tego genu zwiększała około 1000-krotnie LD50 dla szczepu *S. agalactiae*, ponadto mutanty namnażały się *in vivo* słabiej [93].

Stwierdzono, że regulator MtaR aktywował nie tylko ekspresję klasteru genów odpowiedzialnych za transport metioniny (*metQINP*), ale także w niewielkim stopniu powodował obniżenie syntezy argininy. Ponadto obniżał ekspresję proteiny serynowej CspA a wzmacniał produkcję adhezyny FbsB [11]. Sugeruje się, że zarówno obniżona zdolność do przyswajania metioniny, jak i obniżona synteza białka CpsA przyczynia się do zmniejszenia zjadliwości mutantów *mtaR* [11, 93]. MtaR nie wpływał natomiast na ekspresję genów *cps*, pomimo, że jest transkrybowany z tego operonu [93].

### 7.3. Zdolność do wykorzystania hemu

Szczepy *Streptococcus agalactiae* nie są zdolne do syntezy hemu, więc pobierają go z krwi w trakcie zakażenia. Zdolność do użycia hemu, jako źródła żelaza koniecznego w procesie oddychania jest korzystna, i jak wykazano, konieczna do pełnej wirulencji szczepów *S. agalactiae* w modelu sepsy [108]. Stwierdzono, że za utrzymanie homeostazy hemu i protoporfiryny IX (PPIX) u szczepów GBS odpowiada system składający się z operonów: *gbs1753*, *gbs1752* (*pefA* i *pefB*), *gbs1402* (*pefR*), *gbs1401*, *gbs1400* (*pefC* i *pefD*). *PefR* jest represorem obu operonów. Bakterie z inaktywowanymi oboma systemami *Pef* okazały się wrażliwe na porfiryne, natomiast konstytutywna aktywność tych operonów w wyniku inaktywacji *pefR* doprowadziła do zaburzeń oddychania i obniżenia wirulencji patogenów [25].

## 8. Podsumowanie

Pomimo wykonywania badań przesiewowych szczepy *S. agalactiae* nadal pozostają ważnymi patogenami powodującymi groźne w skutkach zakażenia u noworodków. Dlatego też istotne wydaje się poszerzenie wiedzy na temat molekularnych mechanizmów, które odpowiadają za ich zdolność do powodowania tych infekcji. W dużym stopniu za wirulencję odpowiadają posiadane przez bakterie czynniki zjadliwości. Zrozumienie powiązań pomiędzy ich występowaniem, serotypami drobnoustrojów mogłoby umożliwić różnicowanie szczepów inwazyjnych i kolonizujących.

Udowodniono, że szczepy GBS mogą dostosowywać ekspresję genów czynników zjadliwości do zmieniającego się środowiska bytowania oraz etapu zakażenia poprzez systemy transdukcji sygnałów. Wiedza ta może okazać się istotna podczas leczenia zakażeń powodowanych przez szczepy *S. agalactiae*, szczególnie w obliczu narastającej oporności bakterii.



## Piśmiennictwo

- Areschoug T., Stalhammar-Carlemalm M., Karlsson I., Lindahl G.: "Streptococcal  $\beta$  protein has separate binding sites for human factor H and IgA-Fc," *J. Biol. Chem.* **277**, 12642–12648 (2002)
- Baker C.J., Kasper D.L.: Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal Group B Streptococcal infection. *N. Engl. J. Med.* **294**, 753–756 (1976)
- Baron M.J., Filman D.J., Prophete G.A., Hogle J.M., Madoff L.C.: Identification of a glycosaminoglycan binding region of the alpha C protein that mediates entry of group B streptococci into host cells. *J. Biol. Chem.* **282**, 10526–10536 (2007)
- Baron M.J., Bolduc G.R., Goldberg M.B., Auperin T.C., Madoff L.C.:  $\alpha$ C protein of Group B Streptococcus binds host cell surface glycosaminoglycan and enters cells by an actin-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.* **279**, 24714–24723 (2004)
- Beckmann C., Waggoner J.D., Harris T.O., Tamura G.S., Rubens C.E.: Identification of novel adhesins from group B streptococci by use of phage display reveals that C5a peptidase mediates fibronectin binding. *Infect. Immun.* **70**, 2869–2876 (2002).
- Bolduc G.R., Madoff L.C.: The Group B Streptococcal  $\alpha$  C protein binds  $\alpha$ 1 $\beta$ 1-integrin through a novel KTD motif that promotes internalization of GBS within human epithelial cells. *Microbiol.* **153**, 4039–4049 (2007)
- Bohnsack J.F., Widjaja K., Ghazizadeh S., Rubens C.E., Hillyard D.R., Parker C.J., Albertine K.H., Hill H.R.: A role for C5 and C5a-ase in the acute neutrophil response to Group B streptococcal infections. *J. Infect. Dis.* **175**, 847–855 (1997)
- Brochet M., Glaser P. i wsp.: Genomic diversity and evolution within the species *Streptococcus agalactiae*. *Microbes Infect.* **8**, 1227–1243 (2006)
- Brueggemann A.B., Griffiths D.T., Meats E., Peto T., Crook D.W., Spratt B.G.: Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential. *J. Infect. Dis.* **187**, 1424–1432 (2003)
- Bryan J.D., Shelver D.W.: *Streptococcus agalactiae* CspA is a serine protease that inactivates chemokines. *J. Bacteriol.* **191**, 1847–1854 (2009)
- Bryan J.D., Liles R., Cvek U., Trutschl M., Shelver D.: Global transcriptional profiling reveals *Streptococcus agalactiae* genes controlled by the MtaR transcription factor. *BMC Genomics*, **9**, 607 (2008)
- Campbell J.R., Hillier S.L., Krohn M.A., Ferrieri P., Zaleznik D.F., Baker C.J.: Group B Streptococcal colonization and serotype-specific immunity in pregnant women at delivery. *Obstet. Gynecol.* **96**, 498–503 (2000)
- Cheng, Q., Debol S., Lam H., Eby R., Edwards L., Matsuka Y., Olmsted S.B., Cleary P.P.: Immunization with C5a peptidase or peptidase-type III polysaccharide conjugate vaccines enhances clearance of group B streptococci from lungs of infected mice. *Infect. Immun.* **70**, 6409–6415 (2002)
- Chmouryguina I., Suvorov A., Ferrieri P., Cleary P.P.: Conservation of the C5a peptidase genes in group A and B streptococci. *Infect. Immun.* **64**, 2387–2390 (1996)
- Davies H. D., Raj S., Adair C., Robinson J., McGeer A.: Population-based active surveillance for neonatal group B streptococcal infections in Alberta, Canada: implications for vaccine formulation. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **20**, 879–884 (2001)
- Devi A.S., Ponnuraj K.: Cloning, expression, purification and ligand binding studies of novel fibrinogen-binding protein FbsB of *Streptococcus agalactiae*. *Protein Expr. Purif.* **74**, 148–55 (2010)
- Dmitriev A., Yang Y.N., Shen A.D., Totolian A.: Adjacent location of bac gene and two-component regulatory system genes within the putative *Streptococcus agalactiae* pathogenicity island. *Folia Microbiol.* (Praha), **51**, 229–235 (2006)
- Doran K.S., Nizet V. i wsp.: Blood-brain barrier invasion by Group B *Streptococcus* depends upon proper cell-surface anchoring of lipoteichoic acid. *J. Clin. Invest.* **115**, 2499–2507 (2005).
- Doran K.S., Liu G.Y., Nizet V.: Group B streptococcal  $\beta$ -hemolysin/cytolysin activates neutrophil signaling pathways in brain endothelium and contributes to development of meningitis. *J. Clin. Inv.* **112**, 736–744 (2003)
- Dramsi S., Caliot E., Bonne I., Guadagnini S., Prévost M.C., Kojadinovic M., Lalioui L., Poyart C., Trieu-Cuot P.: Assembly and role of pili in Group B Streptococci. *Mol. Microbiol.* **60**, 1401–1413 (2006)
- Edwards M.S., Baker C.J.: Group B Streptococcal infections in elderly adults. *Clin. Infect. Dis.* **41**, 839–847 (2005)
- Elsner A., Kreikemeyer B., Braun-Kiewnick A., Spellerberg B., Buttaro B.A., Podbielski A.: Involvement of Lsp, a member of the rallipoprotein family in *Streptococcus pyogenes*, in eukaryotic cell adhesion and internalization. *Infect. Immun.* **70**, 4859–4869 (2002)
- Fang F.C.: Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 820–832 (2004)
- Farley M.M.: Group B Streptococcal disease in nonpregnant adults. *Clin. Infect. Dis.* **33**, 556–561 (2001)
- Fernandez A., Lechardeur D., Derré-Bobillot A., Couvé E., Gaudu P., Gruss A.: Two coregulated efflux transporters modulate intracellular heme and protoporphyrin IX availability in *Streptococcus agalactiae*. *PLoS Pathog.* **6**, e1000860 (2010)
- Figueira-Coelho J., Ramirez M., Salgado M. J., Melo-Cristino J.: *Streptococcus agalactiae* in a large Portuguese teaching hospital: antimicrobial susceptibility, serotype distribution, and clonal analysis of macrolideresistant isolates. *Microb. Drug Resist.* **10**, 31–36 (2004)
- Forquin M.P., Tazi A., Rosa-Fraile M., Poyart C., Trieu-Cuot P., Dramsi S.: The putative glycosyltransferase-encoding gene *cylJ* and the Group B *Streptococcus* (GBS)-specific gene *cylK* modulate hemolysin production and virulence of GBS. *Infect. Immun.* **75**, 2063–2066 (2007)
- Franken C., Haase G., Brandt C., Weber-Heynemann J., Martin S., Lammler C., Podbielski A., Luttkicken R., Spellerberg B.: Horizontal gene transfer and host specificity of beta-haemolytic streptococci: the role of a putative composite transposon containing *scpB* and *lmb*. *Mol. Microbiol.* **41**, 925–935 (2001)
- Granlund M., Michel F., Norgren M: Mutually exclusive distribution of IS1548 and GBSi1 an active group II intron identified in human isolates of group B streptococci. *J. Bacteriol.* **183**, 2560–2569 (2001)
- Gottschalk B., Broker G., Kuhn M., Aymanns S., Gleich-Theurer U., Spellerberg B.: Transport of multidrug resistance substrates by the *Streptococcus agalactiae* hemolysin transporter. *J. Bacteriol.* **188**, 5984–5992 (2006)
- Gutekunst H., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J.: The novel fibrinogen-binding protein FbsB promotes *Streptococcus agalactiae* invasion into epithelial cells. *Infect. Immun.* **72**, 3495–504 (2004)
- Hamilton A., Popham D.L., Carl D.J., Lauth X., Nizet V., Jones A.L.: Penicillin-binding protein 1a promotes resistance of Group B *Streptococcus* to antimicrobial peptides. *Infect. Immun.* **74**, 6179–6187 (2006)
- Harris T. O., Shelver D. W., Bohnsack J. F., Rubens C. E.: A novel streptococcal surface protease promotes virulence, resistance to opsonophagocytosis, and cleavage of human fibrinogen. *J. Clin. Inv.* **111**, 61–70 (2003)

34. Hery-Arnaud G., Mereghetti L., i wsp.: Mobile genetic elements provides evidence for a bovine origin of clonal complex 17 of *Streptococcus agalactiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 4668–4672 (2007)
35. Hensler M.E., Miyamoto S., Nizet V.: Group B Streptococcal  $\beta$ -hemolysin/cytolysin directly impairs cardiomyocyte viability and function. *PLoS ONE* **3**, e2446 (2008)
36. Hensler M., Quach D., Hsieh Chia-Jun., Doran K.S., Nizet V.: CAMP Factor is Not Essential for Systemic Virulence of Group B. *Streptococcus. Microb Pathog.* **44**, 84–88 (2008)
37. Jiang S.M., Cieslewicz M.J., Kasper D.L., Wessels M.R.: Regulation of virulence by a two-component system in Group B Streptococcus. *J. Bacteriol.* **187**, 1105–1113 (2005)
38. Jiang S.M., Ishmael N., Hotopp J.D., Puliti M., Tissi L., Kumar N., Cieslewicz M.J., Tettelin H., Wessels M.R.: Variation in the Group B *Streptococcus* CsrRS regulon and effects on pathogenicity. *J. Bacteriol.* **190**, 1956–1965, (2008)
39. Jones A.L., Mertz R.H., Carl D.J., Rubens C.E.: A streptococcal penicillin-binding protein is critical for resisting innate airway defenses in the neonatal lung. *J. Immunol.* **179**, 3196–3202 (2007)
40. Jurgens D., Sterzik B., Fehrenbach F.J.: Unspecific binding of Group B Streptococcal cocytolysin (CAMP factor) to immunoglobulins and its possible role in pathogenicity. *J. Exp. Med.* **165**, 720–732 (1987)
41. Klinzing D.C., Madoff L.C., Puopolo K.M.: Genomic analysis identifies a transcription-factor binding motif regulating expression of the alpha C protein in Group B *Streptococcus*. *Microb Pathog.* **46**, 315–320 (2009)
42. Kimura K., Suzuki S., Wachino J., Kurokawa H., Yamane K., Shibata N., Nagano N., Kato H., Shibayama K., Arakawa Y.: First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 2890–2897 (2008)
43. Konto-Ghiorghi Y., Mairey E., Mallet A., Dumenil G., Caliot E., Trieu-Cuot P., Dramsi S.: Dual role for pilus in adherence to epithelial cells and biofilm formation in *Streptococcus agalactiae*. *PLoS Pathog.* **5**, e1000422 (2009)
44. Lalioui L., Pellegrini E., Dramsi S., Trieu-Cuot P.: The SrtA sortase of *Streptococcus agalactiae* is required for cell wall anchoring of proteins containing the LPXTG motif, for adhesion to epithelial cells, and for colonization of the mouse intestine. *Infect. Immun.* **73**, 3342–3350 (2005)
45. Lamy M.C., Poyart C., i wsp. CovS/CovR of Group B *Streptococcus*: a two-component global regulatory system involved in virulence. *Mol. Microbiol.* **54**, 1250–1268 (2004)
46. Lang S., Xue J., Guo Z., Palmer M.: *Streptococcus agalactiae* CAMP factor binds to GPI-anchored proteins. *Med. Microbiol. Immunol.* **196**, 1–10 (2007)
47. Larsson C., Lindroth M., Nordin P., Stålhammar-Carlemalm M., Lindahl G., Krantz I.: Association between low concentrations of antibodies to protein  $\alpha$  and Rib and invasive neonatal group B streptococcal infection. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal. Ed.* **91**, F403–F408 (2006)
48. Li S., Jedrzejak M.J.: Hyaluronan binding and degradation by *Streptococcus agalactiae* hyaluronate lyase. *J. Biol. Chem.* **276**, 41407–41416 (2001)
49. Lin B., Hollingshead S.K., Coligan J.E., Egan M.L., Baker J.R., Pritchard D.G.: Cloning and expression of the gene for Group B Streptococcal hyaluronate lyase. *J. Biol. Chem.* **269**, 30113–30116 (1994)
50. Lin W.J., Walthers D., Connelly J.E., Burnside K., Jewell K.A., Kenney L.J., Rajagopal L.: Threonine phosphorylation prevents promoter DNA binding of the Group B *Streptococcus* response regulator CovR. *Mol. Microbiol.* **71**, 1477–1495 (2009)
51. Lindahl G., Stålhammar-Carlemalm M., Areschoug T.: Surface proteins of *Streptococcus agalactiae* and related proteins in other bacterial pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 102–127 (2005)
52. Liu G.Y., Doran K.S., Lawrence T., Turkson N., Puliti M., Tissi L., Nizet V.: Sword and shield: linked Group B Streptococcal  $\beta$ -hemolysin/ cytolysin and carotenoid pigment function to subvert host phagocyte defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 14491–14496 (2004)
53. Luan S.L., Granlund M., Norgren M.: An inserted DNA fragment with plasmid features is uniquely associated with the presence of the GBSi1 group II intron in *Streptococcus agalactiae*. *Gene*, **312**, 305–312 (2003)
54. Maisey H.C., Quach D., Hensler M.E., Liu G.Y., Gallo R.L., Nizet V., Doran K.S.: A Group B Streptococcal pilus protein promotes phagocyte resistance and systemic virulence. *FASEB J.* **22**, 1715–1724. 2008
55. Maisey H.C., Hensler M., Nizet V., Doran K.S.: Group B Streptococcal pilus proteins contribute to adherence to and invasion of brain microvascular endothelial cells. *J. Bacteriol.* **189**, 1464–1467 (2007)
56. Malin G., Paoletti L.C.: Use of a dynamic *in vitro* attachment and invasion system (DIVAS) to determine influence of growth rate on invasion of respiratory epithelial cells by Group B *Streptococcus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 13335–13340 (2001)
57. Manning S.D., Springman A.C., Lehotzky E., Lewis M.A., Whittam T.S., Davies H.D.: Multilocus Sequence Types Associated with Neonatal Group B Streptococcal Sepsis and Meningitis in Canada. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 1143–1148 (2009)
58. Margarit I., Grandi G. i wsp.: Preventing bacterial infections with pilus-based vaccines: the group B *Streptococcus* paradigm. *J. Infect. Dis.* **199**, 108–115 (2009)
59. Marques M.B., Kasper D.L., Pangburn M.K., Wessels M.R.: Prevention of C3 deposition by capsular polysaccharide is a virulence mechanism of type III group B streptococci. *Infect. Immun.* **60**, 3986–3993 (1992)
60. Martins E.R., Melo-Cristino J., Ramirez M.: Evidence for rare capsular switching in *Streptococcus agalactiae*. *J. Bacteriol.* **192**, 1361–1369 (2010)
61. Maruyama R., Fujiwara H.: Synchronous progression of calcium transient-dependent beating and sarcomere destruction in apoptotic adult cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **290**, H1493–1502 (2006)
62. Mavenyengwa R.T., Maeland J.A., Moyo S.R.: Distinctive Features of Surface-Anchored Proteins of *Streptococcus agalactiae* Strains from Zimbabwe Revealed by PCR and Dot Blotting. *Clin. Vaccine Immunol.* **15**, 1420–1424 (2008)
63. Mereghetti L., Sitkiewicz L., Green N.M., Musser J.M.: Extensive adaptive changes occur in the transcriptome of *Streptococcus agalactiae* (group B *Streptococcus*) in response to incubation with human blood. *PLoS ONE*, **3**, e3143 (2008)
64. Michel J.L., Madoff L.C., Kling D.E., Kasper D.L., Ausubel F.M.: Cloned  $\alpha$  and  $\beta$  C-protein antigens of Group B Streptococci elicit protective immunity. *Infect. Immun.* **59**, 2023–2028 (1991)
65. Miller R.A., Britigan B.E.: Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 1–18 (1997)
66. Morikawa Y., Kitazato M., Katsukawa C., Tamaru A.: Prevalence of cefotaxime resistance in group B *Streptococcus* isolates from Osaka, Japan. *J. Infect. Chemother.* **9**, 131–133 (2003)
67. Nagano N., Nagano Y., Kimura K., Tamai K., Yanagisawa H., Arakawa Y.: Genetic heterogeneity in pbp genes among clinically isolated group B Streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 4258–4267 (2008)
68. Nizet V., Gibson R.L., Chi E.Y., Framson P.E., Hulse M., Rubens C.E.: Group B Streptococcal  $\beta$ -hemolysin expression

- is associated with injury of lung epithelial cells. *Infect. Immun.* **64**, 3818–3826 (1996)
69. Nobbs A.H., Rosini R., Rinaudo C.D., Maione D., Grandi G., Telford J.L.: Sortase A utilizes an ancillary protein anchor for efficient cell wall anchoring of pili in *Streptococcus agalactiae*. *Infect. Immun.* **76**, 3550–3560 (2008)
  70. Ozegowski J.H., Presselt N., Härtl A., Bocker T., Sängler J., Schmidt A., Willing K., Müller P.J.: Anti-atherosclerotic effect of microbial hyaluronate lyase from group B streptococci. *Pharmazie*, **63**, 601–605 (2008)
  71. Podbielski A., Blankenstein O., Luttkicken R.: Molecular characterization of the *cfb* gene encoding Group B Streptococcal CAMP-factor. *Med. Microbiol. Immunol.* (Berl), **183**, 239–256 (1994)
  72. Poyart C., Lamy M.C., Boumaila C., Fiedler F., Trieu-Cuot P.: Regulation of D-alanyl-lipoteichoic acid biosynthesis in *Streptococcus agalactiae* involves a novel two-component regulatory system. *J. Bacteriol.* **183**, 6324–6334 (2001)
  73. Poyart C., Pellegrini E., Gaillet O., Boumaila C., Baptista M., Trieu-Cuot P.: Contribution of Mn cofactored superoxide dismutase (SodA) to the virulence of *Streptococcus agalactiae*. *Infect. Immun.* **69**, 5098–5106 (2001)
  74. Pritzlaff C.A., Chang J.C., Kuo S.P., Tamura G.S., Rubens C.E., Nizet V.: Genetic basis for the  $\beta$ -haemolytic/ cytolytic activity of Group B *Streptococcus*. *Mol. Microbiol.* **39**, 236–247 (2001)
  75. Puopolo K.M., Madoff L.C.: Upstream short sequence repeats regulate expression of the alpha C protein of group B *Streptococcus*. *Mol. Microbiol.* **50**, 977–991 (2003)
  76. Quach D., van Sorge N.M., Kristian S.A., Bryan J.D., Shelver D.W., Doran K.S.: The CiaR response regulator in Group B *Streptococcus* promotes intracellular survival and resistance to innate immune defenses. *J. Bacteriol.* **191**, 2023–2032 (2008)
  77. Rajagopal L., Vo A., Silvestroni A., Rubens C.E.: Regulation of cytotoxin expression by converging eukaryotic-type and two-component signaling mechanisms in *Streptococcus agalactiae*. *Mol. Microbiol.* **62**, 941–957 (2006)
  78. Rinaudo C.D., Rosini R., Galeotti C.L., Berti F., Necchi F., Reguzzi V., Ghezzi C., Telford J.L., Grandi G., Maione D.: Specific involvement of pilus type 2a in biofilm formation in group B *Streptococcus*. *PLoS One*, **15**, e9216 (2010)
  79. Ring A., Braun J.S., Nizet V., Stremmel W., Shenep J.L.: Group B Streptococcal  $\beta$ -hemolysin induces nitric oxide production in murine macrophages. *J. Infect. Dis.* **182**, 150–157 (2000)
  80. Rolland K., Marois C., Siquier V., Cattier B., Quentin R.: *J. Clin. Microbiol.* **37**, 1892–1898 (1999)
  81. Rosenau A., Martins K., Gannier F., Lanotte P., Ven der Mee-Marquet N., Mereghetti L., Quentin R., Evaluation of the ability of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from genital and neonatal specimens to bind to human fibrinogen and correlation with characteristics of the *fbsA* and *fbsB* genes. *Infect. Immun.* **75**, 1310–1317 (2007)
  82. Rosini R., Rinaudo C.D., Soriani M. i wsp. Identification of novel genomic islands coding for antigenic pilus-like structures in *Streptococcus agalactiae*. *Mol. Microbiol.* **61**, 126–141 (2006)
  83. Rozhdstvenskaya A.S., Totolian A.A., Dmitriev A.V.: Inactivation of DNA-binding response regulator Sak189 abrogates beta-antigen expression and affects virulence of *Streptococcus agalactiae*. *PLoS One*, **19**, e10212 (2010)
  84. Sadowy E., Matynia B., Hryniewicz W.: Population structure, virulence factors and resistance determinants of invasive, non-invasive and colonizing *Streptococcus agalactiae* in Poland. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1907–1914 (2010)
  85. Safadi R.A., Amor S., Hery-Arnaud G., Spellerberg B., Lanottel P., Mereghetti L., Gannier F., Quentin R., Rosenau A.: Enhanced Expression of *lmb* Gene Encoding Laminin-Binding Protein in *Streptococcus agalactiae* Strains Harboring IS 1548in *scpB-lmb* Intergenic Region. *PLoS ONE*, **5**, e10794 (2010)
  86. Samen U., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J., Borges E.: The surface protein Srr-1 of *Streptococcus agalactiae* binds human keratin 4 and promotes adherence to epithelial HEp-2 cells. *Infect. Immun.* **75**, 5405–5414 (2007)
  87. Samen U.M., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J.: The transcriptional regulator RovS controls the attachment of *Streptococcus agalactiae* to human epithelial cells and the expression of virulence genes. *Infect. Immun.* **74**, 5625–5635 (2006)
  88. Samen U., Heinz B., Boisvert H., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J., Borges E.: Rga is a regulator of adherence and pili formation in *Streptococcus agalactiae*. *Microbiol.* Feb 17 (2011). [Epub ahead of print]
  89. Santi I., Scarselli M., Mariani M., Pezzicoli A., Masignani V., Taddei A., Grandi G., Telford J.L., Soriani M.: BibA: a novel immunogenic bacterial adhesin contributing to Group B *Streptococcus* survival in human blood. *Mol. Microbiol.* **63**, 754–767 (2007)
  90. Santillan, D.A., Andracki M.E., Hunter S.K.: Protective immunization in mice against group B streptococci using encapsulated C5a peptidase. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **198**, e1–e6 (2008)
  91. Schubert A., Zakikhany K., Schreiner M., Frank R., Spellerberg B., Eikmanns B. J., Reinscheid D. J.: A fibrinogen receptor from group B *Streptococcus* interacts with fibrinogen by repetitive units with novel ligand binding sites. *Mol. Microbiol.* **46**, 557–569 (2002).
  92. Seifert K.N., Adderson E.E., Whiting A.A., Bohnsack J.F., Crowley P.J., Brady L.J.: A unique serine-rich repeat protein (Srr-2) and novel surface antigen ( $\epsilon$ ) associated with a virulent lineage of serotype III *Streptococcus agalactiae*. *Microbiology*, **152**, 1029–1040 (2006)
  93. Shelver D., Rajagopal L., Harris T.O., Rubens C.E.: MtaR, a regulator of methionine transport, is critical for survival of Group B *Streptococcus in vivo*. *J. Bacteriol.* **185**, 6592–6599 (2003)
  94. Shelver D., Bryan J. D.: Expression of the *Streptococcus agalactiae* virulence-associated protease CspA in a soluble, active form utilizing the Gram-positive host, *Lactococcus lactis*. *J. Biotechnol.* **136**, 129–134 (2008)
  95. Sorge N.M., Quach D., Gurney M.A., Sullam P.M., Nizet V., Doran K.S.: The Group B Streptococcal Srr-1 glycoprotein mediates penetration of the blood-brain barrier. *J. Infect. Dis.* **199**, 1479–1487 (2009)
  96. Spellerberg B., Rozdzinski E., Martin S., Weber-Heynemann J., Schnitzler N., Luttkicken R., Podbielski A.: Lmb, a protein with similarities to the Lral adhesin family, mediates attachment of *Streptococcus agalactiae* to human laminin. *Infect. Immun.* **67**, 871–878 (1999)
  97. Spellerberg B., Pohl B., Haase G., Martin S., Weber-Heynemann J., Luttkicken R.: Identification of genetic determinants for the hemolytic activity of *Streptococcus agalactiae* by ISS1 transposition. *J. Bacteriol.* **181**, 3212–3219 (1999)
  98. Spellerberg B., Rozdzinski E., Martin S., Weber-Heynemann J., Luttkicken R.: *rgf* encodes a novel twocomponent signal transduction system of *Streptococcus agalactiae*. *Infect. Immun.* **70**, 2434–2440 (2002)
  99. Stalhammar-Carlemalm M., Stenberg L., Lindahl G.: Protein rib: a novel group B streptococcal cell surface protein that confers protective immunity and is expressed by most strains causing invasive infections. *J. Exp. Med.* **177**, 1593–1603 (1993)
  100. Takahashi S., Nagano Y., Nagano N., Hayashi O., Taguchi F., Okuwaki Y.: Role of C5a-ase in Group B Streptococcal resistance to opsonophagocytic killing. *Infect. Immun.* **63**, 4764–4769 (1995)

101. Takamatsu D., Bensing B.A., Cheng H., Jarvis G.A., Siboo I.R., López J.A., Griffiss J.M., Sullam P.M.: Binding of the *Streptococcus gordonii* surface glycoproteins GspB and Hsa to specific carbohydrate structures on platelet membrane glycoprotein Iba. *Mol. Microbiol.* **58**, 380–392 (2005)
102. Tamura G.S., Hull J.R., Oberg M.D., Castner D.G.: High-affinity interaction between fibronectin and the Group B Streptococcal C5a peptidase is unaffected by a naturally occurring four-amino-acid deletion that eliminates peptidase activity. *Infect. Immun.* **74**, 5739–5746 (2006)
103. Tenenbaum T., Spellerberg B., Adam R., Vogel M., Kim K.S., Schroten H.: *Streptococcus agalactiae* invasion of human brain microvascular endothelial cells is promoted by the laminin-binding protein *Lmb*. *Microbes Infect.* **9**, 714–720 (2007)
104. Tettelin H., Fraser C.M., i wsp. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial 'pan-genome'. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13950–13955 (2005)
105. Tettelin H., Fraser C.M., i wsp.: Complete genome sequence and comparative genomic analysis of an emerging human pathogen, serotype V *Streptococcus agalactiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 12391–12396 (2002)
106. Ulrich L.E., Koonin E.V., Zhulin I.B.: One-component systems dominate signal transduction in prokaryotes. *Trends Microbiol.* **13**, 52–56 (2005)
107. Wästfelt M., Stålhammar-Carlemalm M., Delisse A.M., Cabezon T., Lindahl G.: Identification of a family of streptococcal surface proteins with extremely repetitive structure. *J. Biol. Chem.* **271**, 18892–18897 (1996)
108. Yamamoto Y., Poyart C., Trieu-Cuot P., Lamberet G., Gruss A., Gaudu P.: Respiration metabolism of Group B Streptococcus is activated by environmental haem and quinone and contributes to virulence. *Mol. Microbiol.* **56**, 525–534 (2005)
109. Yian Y. Q., Johanson K. O., McDevitt P.: Nuclear magnetic resonance solution structure of truncated human GRO<sub>1</sub> [5–73] and its structural comparison with CXC chemokine family members GRO<sub>1</sub> and IL-8. *J. Mol. Biol.* **294**, 1065–1072 (1999)
110. Zapun A., Contreras-Martel C., Vernet T.: Penicillin-binding proteins and  $\beta$ -lactam resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* **32**, 361–385 (2008)