

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

Editor Committee: STREP group of SADEBAC (Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas), Asociación Argentina de Microbiología.

Comité Editor: Grupo STREP de SADEBAC (Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas), Asociación Argentina de Microbiología.

Bonofiglio, Laura
Gagetti, Paula
García Gabarrot, Gabriela
Kaufman, Sara
Lopardo, Horacio

Mollerach, Marta
Toresani, Inés
Vigliarolo, Laura
Von Specht, Martha

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

Clinical laboratory perspective on *Streptococcus halichoeri*, an unusual nonhemolytic, Lancefield Group B streptococcus causing human infections.

Shakir SM¹, Gill R², Salberg J³, Slechta ES⁴, Feldman M², Fritsche T⁵, Clarridge J⁶, Sharp SE^{3,7}, Fisher MA.¹

¹University of Utah/ARUP Laboratories, Salt Lake City, Utah, USA

²Texas Health Presbyterian Hospital of Dallas, Dallas, Texas, USA

³Kaiser Permanente Regional Microbiology and Molecular Infectious Diseases Laboratories, Portland, Oregon, USA

⁴ARUP Institute for Clinical and Experimental Pathology, Salt Lake City

⁵Marshfield Clinic Health System, Marshfield, Wisconsin, USA

⁶University of Washington, Seattle, Washington, USA

⁷Copan Diagnostics, Murrieta, California, USA

Emerg Infect Dis. 2021; 27(5): 1309-16.

Streptococcus halichoeri is a gram-positive coccus firstly described in gray seals (*post mortem*) in 2004, and afterwards in infected wild and domestic animals, including dogs and cats. The first human infection was an empyema in a diabetic patient, in 2013. Other human infections were described previously to the present study. Authors described 45 isolates of *S. halichoeri* obtained from 39 patients between 2010 and 2018. Patients in this study had not known exposure to animals. Forty percent of isolates were from wound infections, 20% from blood, 16% from tissue, 9% from urine, and 9% from otherwise normally sterile fluids (1 peritoneal, 2 synovial fluid, 1 unspecified).

Colonies of *S. halichoeri* are white, non-hemolytic, catalase-positive when grown on blood or chocolate agar, but catalase-negative when grown in Mueller Hinton agar. Its morphology may be of clusters and short chains, except when seen from a culture in thioglycollate broth. It is group B positive but hippurate negative. One study characterizes two subspecies: *S. halichoeri* subsp. *hominis*, which produces acid from sucrose and is bile-esculin positive, and was isolated from humans, and *S. halichoeri* subsp. *halichoeri*, that is negative for the two tests, and was isolated from animals. Other conventional tests are PYR positive and 6.5% NaCl negative. At least one isolate was Voges Proskauer and LAP positive. Identification was performed by MALDI-TOF MS or 16S *rRNA* gen sequencing. All isolates were susceptible to penicillin, ceftriaxone, daptomycin, vancomycin, levofloxacin, linezolid and meropenem, 28% were resistant to clindamycin and non-susceptible to erythromycin; 18% were non-susceptible to doxycycline.

This study should alert those of us who use conventional identification methods to consider (1) from which culture media we do the catalase test (2) that the Gram stain should be performed from liquid media, especially thioglycollate broth despite the fact that chains or clusters were seen from the clinical material (3) do all the necessary tests to reach a species (4) that no longer, everything that agglutinates with group B antiserum is *Streptococcus agalactiae*.

Perspectiva desde el laboratorio clínico sobre *Streptococcus halichoeri*, un estreptococo del grupo B de Lancefield no hemolítico inusual que causa infecciones en seres humanos.

Streptococcus halichoeri es un coco gram positivo descrito por primera vez en focas grises (*post mortem*) en 2004 y, luego, en animales salvajes y domésticos infectados, incluyendo perros y gatos. La primera infección humana fue un empiema en un paciente diabético, en 2013. Otras infecciones humanas se informaron previamente al presente estudio. Los autores describieron 45 aislamientos de *S. halichoeri* obtenidos

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

de 39 pacientes entre 2010 y 2018. Los pacientes de este estudio no tenían exposición conocida a animales. El cuarenta por ciento de los aislamientos fueron de infecciones de heridas, 20% de sangre, 16% de tejidos, 9% de orina y 9% de fluidos normalmente estériles (1 peritoneal, 2 líquido sinovial, 1 no especificado).

Las colonias de *S. halichoeri* son blancas, no hemolíticas, catalasa positivas cuando se cultivan en agar sangre o chocolate, pero catalasa negativas cuando se cultivan en agar Mueller Hinton. Su morfología puede ser de racimos y cadenas cortas, excepto cuando se observa en un cultivo en caldo de tioglicolato. Es positivo para el grupo B pero negativo para el hipurato. Un estudio caracterizó dos subespecies: *S. halichoeri* subsp. *hominis*, que produce ácido a partir de sacarosa y es bilis esculina positivo, y fue aislada de seres humanos, y *S. halichoeri* subsp. *halichoeri*, que es negativo para las dos pruebas y se aisló de animales. Otras pruebas convencionales son PYR positivo y NaCl al 6,5% negativo. Al menos una cepa fue positiva para Voges Proskauer y LAP. La identificación se realizó mediante MALDI-TOF MS o secuenciación del gen *16S rRNA*. Todos los aislamientos eran sensibles a penicilina, ceftriaxona, daptomicina, vancomicina, levofloxacina, linezolid y meropenem, 28% eran resistentes a clindamicina y no sensibles a eritromicina; el 18% no era sensible a la doxiciclina.

Este estudio debe alertar a quienes utilizamos métodos convencionales de identificación para considerar (1) desde qué medios de cultivo hacemos la prueba de catalasa (2) que se realice la coloración de Gram desde medios líquidos, en especial de caldo tioglicolato a pesar de que se vean cadenas o acúmulos desde el material clínico (3) hacer todas las pruebas necesarias para llegar a especie (4) que, ya no más, todo lo que aglutine con antisuero de grupo B es *Streptococcus agalactiae*.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

Pneumococcal osteoarticular infections in children admitted to a Pediatric Reference Hospital from Misiones, Argentina. Thirteen years of surveillance

Mónica E. Martínez^{1,2}, Jessica Benitez¹, Lorena B. Leguizamón², Oscar H. López², Sandra L. Grenón¹, Marta E. Mollerach^{3,4}, Martha H. von Specht^{1,2}.

¹ Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Av. Mariano Moreno 1375, N3300RBS. Posadas, Misiones.

² Hospital Provincial de Pediatría "Dr. Fernando Barreyro". Av. Mariano Moreno 1092, N3300QZQ, Posadas, Misiones.

³ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular; Junín 954, C1113AAD, Buenos Aires, Argentina.

⁴ CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Revista Argentina de Microbiología 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.10.003>

Invasive pneumococcal diseases (IPD) continue to be an important cause of morbidity and mortality worldwide, especially in children under 5 years old. Pneumococcal osteoarticular infections (POI) represent between 1.2% and 6% of all pediatric IPD. Authors describe the clinical and microbiological characteristics of 5 cases of POI detected in the framework of the surveillance of IPD in the years 2005, 2009, 2011, 2015 and 2017, in patients admitted to the Provincial Reference Pediatric Hospital "Dr. Fernando Barreyro" (Posadas, Misiones). Patients were a 4-year-old boy and 4 girls aged 4 months and 6, 10 and 11 years old, with diagnoses of osteomyelitis of the scapula and humerus, arthritis of the hip, arthritis of the ankle, and osteomyelitis of the distal fibula. One patient was seropositive for the human immunodeficiency virus. Symptoms of infection in the upper airways and blunt trauma were recorded as a history of infection. In this serie, the synovial / bone sample culture was positive in all cases and the blood sample in two cases (arthritis and osteomyelitis). All the recovered isolates were susceptible to β -lactams, one isolate type ST19F presented resistance to macrolides and tetracycline. Three isolates were serotyped, two serotypes were included in the 13-valent conjugate vaccine (PCV13: 19F and 7F) and the other one in the 23-valent polysaccharide vaccine (11A). The patient from whom pneumococcus serotype 7F was recovered, had received a dose of PCV13. All children experienced the classic triad of fever, pain, and functional impotence, accompanied or not by local inflammatory signs, thus revaluating the role of the laboratory in culture diagnosis. The 5 patients were discharged as cured and without complications. Despite the low frequency, the etiology of *S. pneumoniae* must be considered among osteoarticular infections. The findings contribute to document the behavior of this pathogen and reinforce the importance of epidemiological surveillance to record and monitor changes in the epidemiology of IPD.

Infección neumocócica osteoarticular en niños atendidos en un hospital pediátrico de referencia de Misiones, Argentina. Trece años de vigilancia.

Las infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae* (EISpn) continúan siendo una causa importante de morbimortalidad a nivel mundial, especialmente en menores de 5 años. Las infecciones osteoarticulares (IOA) neumocócicas representan entre el 1,2% y el 6% del total de las EISpn pediátricas.

En este estudio se describen las características clínicas y microbiológicas de 5 casos de IOA detectados en el marco de la vigilancia de las EISpn en los años 2005, 2009,

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

2011, 2015 y 2017, en pacientes internados en el Hospital Pediátrico de Referencia Provincial "Dr. Fernando Barreyro" (Posadas, Misiones). Los pacientes fueron un niño de 4 años y 4 niñas de 4 meses y 6, 10 y 11 años de edad con diagnósticos osteomielitis de escápula y húmero, artritis de cadera, artritis de tobillo y osteomielitis de peroné distal. Un paciente era seropositivo para el virus de la inmunodeficiencia humana. Como antecedente de la infección se registraron cuadros de infección en vías aéreas superiores y traumatismo cerrado. En esta serie, el cultivo de muestra sinovial/ósea fue positivo en todos los casos y el de sangre en dos (artritis y osteomielitis). Todos los aislamientos recuperados fueron sensibles a β -lactámicos, un aislado (ST19F) presentó resistencia a macrólidos y tetraciclina. Se serotificaron tres aislamientos, dos serotipos estaban incluidos en la vacuna conjugada 13-valente (VCN13-v: 19F y 7F) y el otro en la vacuna polisacárida 23-valente (PPSV23, 11A). Los autores destacan que el paciente del cual se recuperó el neumococo serotipo 7F había recibido una dosis de VCN13-v. Todos los niños experimentaron la clásica tríada de fiebre, dolor e impotencia funcional, acompañada o no, por signos inflamatorios locales con lo cual se revaloriza el papel del laboratorio en el diagnóstico por cultivo. Los 5 pacientes fueron dados de alta como curados y sin complicaciones. A pesar de la baja frecuencia, la etiología de *S. pneumoniae* debe considerarse entre las infecciones osteoarticulares. Los hallazgos presentados contribuyen a documentar el comportamiento de este patógeno y refuerzan la importancia de la vigilancia epidemiológica para registrar y monitorear los cambios en la epidemiología de las Elspn.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

Multistate, population-based distributions of candidate vaccine targets, clonal complexes, and resistance features of invasive Group B Streptococci within the US: 2015–2017

Lesley McGee¹, Sopio Chochua¹, Zhongya Li², Saundra Mathis², Joy Rivers¹, Benjamin Metcalf¹, Alison Ryan³, Nisha Alden⁴ Monica M. Farley^{5,6}, Lee H. Harrison⁷, Paula Snippes Vagnone⁸, Ruth Lynfield⁸, Chad Smelser⁹, Alison Muse¹⁰, Ann. R Thomas¹¹, Stephanie Schrag¹, Bernard W. Beall¹

¹ Respiratory Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta GA USA

² IHRC Inc, Contractor to Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta GA USA

³ California Emerging Infections Program, Oakland

⁴ Colorado Department of Public Health and Environment, Denver

⁵ Emory University School of Medicine

⁶ Atlanta VA Medical Center, Atlanta, Georgia

⁷ Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland ⁸ Minnesota Department of Health, St Paul

⁹ New Mexico Department of Public Health, Santa Fe

¹⁰ New York State Department of Health, Albany

¹¹ Oregon Department of Human Services, Portland

Clin Infect Dis 2021 Mar 15;72(6):1004-1013. doi: 10.1093/cid/ciaa151.

Editorial Commentary Group B Streptococcus Dynamics in the United States

Romney M. Humphries^{1,2}

¹ Accelerate Diagnostics, Tucson, Arizona, USA,

² Department of Pathology, University of Arizona, Tucson, Arizona, USA

Clinical Infectious Diseases, Volume 72, Issue 6, 15 March 2021, Pages 1014–1015, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa155>

Group B Streptococcus (GBS) is a leading cause of neonatal sepsis and meningitis and an important cause of invasive infections in pregnant and nonpregnant adults. Vaccines targeting capsule polysaccharides and common proteins are under development.

6340 invasive GBS recovered during 2015-2017 through population-based Active Bacterial Core surveillance in eight states were characterized by whole genome sequencing.

91.1% were GBS strains identified from adults older than 18 years old while 8% were from infants under three months of age (3.7 % and 4.3% early and late onset disease respectively).

Analysis of serotype diversity, classification of *pilus* clusters and presence of rib and alpha related proteins were performed.

Serotype prevalence results were Ia, V, II, III, Ib and IV from adults and III from neonatal infections. Molecular epidemiology showed 11 distinct clonal complexes, some of them included sequence type 17 and 19, described as hyper-virulent clones. Isolates with mutations related to beta-lactams resistance were found, and vancomycin resistance was detected in low percentage. Molecular determinants related to macrolide resistance were present in 56% of isolates.

In addition, genes to 1-2 main *pilus* clusters, genes associated with virulence factors such as capsule genes were detected. Also *hvgA* gene, mostly associated to serotype III/CC17 isolates, to 7 IV/CC452 and 1 IV/CC17 in minor proportion, was detected.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

As regards the vaccines under development and the results obtained, the authors suggest current vaccine candidates should have good coverage. Although, capsular switching events could occur among clonal complexes present in their collections and, consequently poorly represented serotypes (as serotype IV) could emerge in the genetic context of virulent clonal complexes.

In conclusion, penicillin is still the drug of choice. Continuous monitoring of diverse resistance features is essential in view of the rapidly growing proportion of invasive GBS that are resistant to macrolides and lincosamides.

This publication was commented on in an editorial written by Romney M. Humphries. This author suggests that the serotypes included in the serotyped based vaccine would not protect against invasive infections in adults since it is not clear if antibodies immunity to polysaccharide is protective against invasive disease. Also suggest that serotype IV, that is not included in the vaccine formulation, is an emerging serotype that represents 12 % of adults invasive in the study and also could emerge by capsular switching, as has been reported in GBS. Although it suggests the importance of monitoring the dynamics in the scenario of vaccines and the increase of invasive infections caused by GBS in adults.

Moreover, he considers the finds related to beta-lactam resistance as not conclusive, which is not a particular concern for the time being, since they are a low proportion.

Estudio de base poblacional, en multiestados de USA, de la distribución de los candidatos vacunales, complejos clonales y características de las resistencias en *Streptococcus* invasivos del Grupo B en los años 2015-2017 Comentario Editorial, Dinámica de los *Streptococcus* grupo B en USA

Los estreptococos del grupo B (GBS) son causa de meningitis y sepsis neonatal así como de infecciones invasivas en adultos y embarazadas. Se hallan en desarrollo vacunas contra su cápsula polisacárida y proteínas comunes.

Seis mil trescientos cuarenta GBS invasivos fueron caracterizados por secuenciación de genoma completo. Estos aislados fueron recolectados durante el período 2015-2017, en el marco del estudio de base poblacional llamado "Active Bacterial Core Surveillance", que involucró 8 estados de los EE.UU.

El 91,1% de los GBS fueron aislados de adultos mayores de 18 años, mientras que 8% fueron de lactantes menores de 3 meses (3,7% de infección neonatal temprana y 4.3 % de tardía).

Se realizó el análisis de la diversidad de serotipos, el grupo de *pili* en el cual se agrupan los aislados y los genes que codifican proteínas relacionadas a la virulencia. El orden de prevalencia de serotipos en los GBS de adultos fue Ia, V, II, III, Ib and IV; en aislamientos neonatales predominó el serotipo III. El análisis molecular mostró 11 complejos clonales distintos; algunos de éstos incluyeron a los secuenciotipos 17 y 19, descritos como representantes de clones hipervirulentos.

El estudio de la resistencia demostró la presencia de GBS con mutaciones en los genes de *pbp* relacionados a la resistencia a beta-lactámicos y una baja proporción de aislamientos con genes relacionados a la resistencia a vancomicina. Es alarmante el 56% de aislamientos que poseen determinantes de resistencia a macrólidos.

Además se detectaron genes relacionados con los *pili* de los clusters 1 y 2 y genes relacionados a virulencia, entre ellos el gen *hvgA*, que se encontró asociado a aislamientos del serotipo III/CC17 y, en menor proporción, 7 EGB del serotipo 7 IV/CC452 y 1 del serotipo IV/CC17.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°2

June 2021

Teniendo en cuenta las vacunas que se encuentran en desarrollo y los resultados encontrados, los autores sugieren que las vacunas tendrían buena cobertura. Sin embargo, en caso de ocurrir eventos de variación capsular, los serotipos menos representados en la colección, como el IV, podrían emerger en un entorno genético como el de los que poseen complejos clonales virulentos.

En conclusión, la penicilina sigue siendo el antibiótico de elección pero es importante el monitoreo de la resistencia teniendo en cuenta sobre todo el incremento de los aislamientos con determinantes de la resistencia a macrólidos y lincosamidas.

Este artículo publicado fue además comentado por Romney M. Humphries, quien cuestionó los resultados respecto a la cobertura de la vacuna, teniendo en cuenta la distribución de los serotipos hallados. Humphries plantea que no se conoce la inmunidad de los anticuerpos que se generan contra la cápsula y su capacidad de proteger contra aislamientos de infecciones invasivas. Además comenta que el serotipo IV, que no está incluido en la vacuna en desarrollo, es un serotipo emergente que representa el 12% de los GBS provenientes de adultos en el estudio y que además puede emerger por eventos de variación reemplazo capsular.

Por otra parte, cuestiona la relevancia del hallazgo de GBS aislamientos con sensibilidad disminuida a la penicilina, que no es concluyente, dado que por encontrarse en un porcentaje muy pequeño, que, al menos por ahora, no generaría gran preocupación.