

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 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 Gabarro, Gabriela

Kaufman, Sara

Lopardo, Horacio

Mollerach, Marta

Toresani, Inés

Vigliarolo, Laura

Von Specht, Martha

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

Population genetic structure, serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in Argentina

Paula Gagetti^{1*}, Stephanie W. Lo^{2*}, Paulina A. Hawkins^{3,7}, Rebecca A. Gladstone², Mabel Regueira⁴, Diego Faccone¹, SIREVA-Argentina group⁵, Keith P. Klugman³, Robert F. Breiman^{3,6}, Lesley McGee⁷, Stephen D. Bentley², Alejandra Corso¹

1. Antimicrobial Agents Division. National Reference Laboratory in Antimicrobial Resistance. INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Buenos Aires, Argentina
2. Parasites and Microbes, The Wellcome Sanger Institute, Wellcome Genome Campus, Hinxton, UK
3. Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, GA, USA
4. Bacteriology Division. INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Buenos Aires, Argentina
5. Members are listed in the Acknowledgement section
6. Emory Global Health Institute, Atlanta, USA
7. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA

Microbial Genomics 2021;7:000636 DOI 10.1099/mgen.0.000636

Invasive disease caused by *Streptococcus pneumoniae* (IPD) is one of the leading causes of morbidity and mortality in young children worldwide. In Argentina, PCV13 was introduced into the childhood immunization program nationwide in 2012 and PCV7 was available from 2000, but only in the private market. Since 1993 the National IPD Surveillance Program, consisting of 150 hospitals, has conducted nationwide pneumococcal surveillance in Argentina in children under 6 years of age, as part of the SIREVA II- PAHO network.

The aim of this study was to determine the serotype distribution, antimicrobial resistance and population genetic structure of this pneumococcal collection before and after the introduction of PCVs. We also evaluated the correlation between the serotype and the resistance profile determined phenotypically and those inferred by whole genome sequencing (WGS).

A total of 1,713 pneumococcal isolates characterized by serotype (Quellung) and antimicrobial resistance (agar dilution) to ten antibiotics, belonging to three study periods: Pre-PCV7 era 1998-1999 (Pre-PCV), before the introduction of PCV13 2010-2011 (PCV7) and after the introduction of PCV13 2012-2013 (PCV13), were included.

Fifty-four serotypes were identified in the entire collection and serotypes 14, 5 and 1 represented 50% of the isolates. Non-susceptibility to penicillin was 34.9%, cefotaxime 10.6%, meropenem 4.9%, cotrimoxazole 45%, erythromycin 21.5%, tetracycline 15.4%, and chloramphenicol 0.4%. All the isolates were susceptible to levofloxacin, rifampin and vancomycin.

A subset of 413 isolates was randomly selected and the whole-genome sequenced as part of Global Pneumococcal Sequencing Project (GPS). The genome data was used to investigate the population structure of *S. pneumoniae* defining pneumococcal

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

lineages using Global Pneumococcal Sequence Clusters (GPSCs), sequence types (STs) and clonal complexes (CCs), prevalent serotypes and their associated pneumococcal lineages and genomic inference of antimicrobial resistance.

The collection showed a great diversity of strains. Among the 413 isolates, 73 known and 36 new STs, were identified belonging to 38 CCs and 25 singletons, grouped into 52 GPSCs.

The 8 previously recognized global-spreading strains were also present in the collection from Argentina with a prevalence of 28.3%. Our analysis showed that 66.1% (273/413) of the isolates were non-susceptible to at least one antibiotic and 11.9% (49/413) were multidrug resistant. Important changes were observed among vaccine types when Pre-PCV and PCV13 periods were compared; a significant decrease in serotypes 14, 6B and 19F and a significant increase in 7F and 3 was found. Two years after PCV13 introduction, PCV13 serotypes remained in the top five serotypes with one emerging non-vaccine serogroup 24 suggesting early indications of restructuring of the population toward its new equilibrium. In a more recent follow-up study, we found that serogroup 24 has continued to be the major non-PCV13 serotype in children under two years old with IPD, ranking the first in 2013 and reaching 16.2% in 2016 with a high proportion of multidrug resistance.

We found an agreement of 100% when comparing the serotype determined by Quellung and WGS-based serotyping. Genomic inference of antibiotic resistance showed 94.7% of agreement with phenotypic detection.

This study provides results of the early effect of vaccination at a national level with global context. Continued surveillance is needed to reveal the dynamics of pneumococcal isolates in Argentina in post-PCV13 era.

Estructura poblacional, distribución de serotipos y resistencia a los antibióticos de *Streptococcus pneumoniae* causante de enfermedad invasiva en niños de la Argentina.

La enfermedad invasiva causada por *Streptococcus pneumoniae* (ENI) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en niños pequeños en todo el mundo. En la Argentina, la vacuna conjugada neumocócica PCV13 se introdujo en el programa nacional de inmunizaciones en 2012 y la PCV7 estuvo disponible desde el año 2000, pero solo en el mercado privado. Desde 1993 en la Argentina se realiza la vigilancia ENI en niños menores de 6 años como parte de la red SIREVA II-OPS integrada por 150 hospitales.

El objetivo de este estudio fue determinar la distribución de serotipos, la resistencia a los antimicrobianos y la estructura genética poblacional de esta colección de neumococos, antes y después de la introducción de las vacunas neumocócicas conjugadas. También evaluamos la correlación entre el serotipo y el perfil de resistencia determinado fenotípicamente y los inferidos por secuenciación completa de genomas (WGS).

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

Se incluyeron 1713 aislados neumocócicos pertenecientes a tres períodos de estudio: era Pre-PCV7 1998-1999 (Pre-PCV), antes de la introducción de PCV13 2010-2011 (PCV7) y después de la introducción de PCV13 2012-2013 (PCV13), caracterizados por serotipo (Quellung) y resistencia antimicrobiana (dilución en agar) a diez antibióticos.

En toda la colección se identificaron 54 serotipos y los serotipos 14, 5 y 1 representaron el 50% de los aislados. La no sensibilidad a la penicilina fue 34,9%, a cefotaxima 10,6%, a meropenem 4,9%, a cotrimoxazol 45%, a eritromicina 21,5%, a tetraciclina 15,4% y a cloranfenicol 0,4%. Todos los aislados fueron sensibles a levofloxacina, rifampicina y vancomicina.

Se secuenció el genoma completo de un grupo de 413 aislados seleccionados al azar, como parte del Proyecto Global de Secuenciación de Neumococos (GPS). Los datos del genoma se utilizaron para investigar la estructura de la población de *S. pneumoniae* que define los linajes neumocócicos mediante el uso de grupos de secuencias neumocócicas globales o *GPS clusters* (GPSC), secuenciotipos (ST) y complejos clonales (CC), los serotipos prevalentes y sus linajes asociados, y la inferencia de la resistencia a los antibióticos a partir de los genomas.

La colección mostró una gran diversidad de cepas. Entre los 413 aislados, se identificaron 73 ST previamente descritos y 36 nuevos, pertenecientes a 38 CC y 25 singletons, agrupados en 52 GPSC. Los 8 GPSC previamente descritos a nivel global también estaban presentes en la colección de la Argentina, con una prevalencia del 28,3%.

Nuestro análisis mostró que el 66,1% (273/413) fue no sensible a por lo menos un antibiótico y el 11,9% (49/413) fue multiresistente. Se observaron cambios importantes entre los serotipos vacunales cuando se compararon los períodos Pre-PCV y PCV13; una disminución significativa en los serotipos 14, 6B y 19F y un aumento significativo en 7F y 3. Los serotipos vacunales permanecieron entre los cinco serotipos principales dos años después de la introducción de PCV13, con la emergencia de un serogrupo no vacunal 24, que da indicios tempranos de reestructuración de la población hacia su nuevo equilibrio. En un estudio de seguimiento más reciente, encontramos que el serogrupo 24 continuó siendo el principal serotipo no vacunal en niños menores de dos años con ENI, ocupó el primer lugar en 2013 y alcanzó el 16,2% en 2016 con una alta proporción de multiresistencia.

Al comparar el serotipo determinado por Quellung y la serotipificación basada en WGS encontramos una concordancia del 100%. La inferencia genómica de la resistencia a los antibióticos mostró 94,7% de concordancia con respecto a la detectada fenotípicamente.

Este estudio proporciona resultados del efecto temprano de la vacunación a nivel nacional con un contexto global. La vigilancia continua es necesaria para revelar la dinámica de los aislados neumocócicos en Argentina en la era post-PCV13.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

***Streptococcus gallolyticus* increases expression and activity of aryl hydrocarbon receptor-dependent CYP1 biotransformation capacity in colorectal epithelial cells**

Taddese R¹, Roelofs R², Draper D¹, Wu X³, Wu S³, Swinkels DW², Tjalsma H², Boleij A¹.

¹Department of Pathology, Nijmegen Institute for Molecular Life Sciences (RIMLS), Radboud University Medical Centre (Radboudumc), Nijmegen, Netherlands.

²Laboratory Medicine, Nijmegen Institute for Molecular Life Sciences (RIMLS), Radboud University Medical Centre (Radboudumc), Nijmegen, Netherlands.

³Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, United States.

Front Cell Infect Microbiol. 2021; 11: 740704

Streptococcus gallolyticus subsp. *gallolyticus* (formerly known as *Streptococcus bovis* biotype I) has been consistently associated with colorectal carcinoma (CRC).

It is suggested that CRC or advanced adenomas provide a specific niche for *S. gallolyticus*. One of the mechanisms described is the collagen-binding capacity of *S. gallolyticus*, which potentially contributes to the specific colonization of malignant colonic sites. Furthermore, the metabolites of colon tumor cells could facilitate the survival and overgrowth of *S. gallolyticus*. The specific tissue binding of CRC is controversial and debated. Although an incidental relationship between *S. gallolyticus* and CRC seems plausible, *S. gallolyticus* may also play a contributing role in the carcinogenesis process itself.

The objective of this study focused on the identification of the epithelial pathways induced by *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* that may, in the long term, contribute to carcinogenesis. A factor that is present in the *S. gallolyticus* secretome (SGS) was shown to persistently induce cytochrome P450 (CYP) 1 through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in four different colon adenocarcinoma cells. These expression data were confirmed in a mouse model and, subsequently, it was shown that SGS could increase DNA damage produced by the polycyclic aromatic hydrocarbon 3-methylcholanthrene *in vitro*. AhR activation and CYP1 induction appear to be dependent on the *S. gallolyticus* strain and could potentially also be induced by other intestinal bacteria.

This offers a novel theory on the contribution of intestinal bacteria to the etiology of CRC by modifying the capacity of intestinal epithelial or (pre-)cancerous cells to (de)toxify dietary components, which could alter intestinal susceptibility to DNA damaging events.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

***Streptococcus gallolyticus* aumenta la expresión y la actividad de la capacidad de biotransformación del CYP1 dependiente del receptor de aril-hidrocarburos en las células epiteliales colorrectales**

Streptococcus gallolyticus subsp. *gallolyticus* (anteriormente conocido como *Streptococcus bovis* biotipo I) se ha relacionado consistentemente con el carcinoma colorrectal (CCR).

Se sugiere que el CCR o los adenomas avanzados proporcionan un nicho específico para *S. gallolyticus*. Uno de los mecanismos descritos es la capacidad de unión de colágeno de *S. gallolyticus*, que potencialmente contribuye a la colonización específica de sitios colónicos malignos. Además, los metabolitos de las células tumorales del colon podrían facilitar la supervivencia y el sobrecrecimiento de *S. gallolyticus*. La unión específica al tejido del CCR es controvertida y debatida. Aunque parece plausible una relación incidental entre *S. gallolyticus* y el CRC, *S. gallolyticus* también puede desempeñar un papel contribuyente en el proceso de carcinogénesis en sí.

El objetivo de este estudio se centró en la identificación de las vías epiteliales inducidas por *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* que pueden, a largo plazo, contribuir a la carcinogénesis. Se mostró que un factor que está presente en el secretoma de *S. gallolyticus* (SGS), indujo al citocromo P450 (CYP) 1 de forma persistente a través del receptor de aril-hidrocarburos (AhR) en cuatro células diferentes de adenocarcinoma de colon. Estos datos de expresión se confirmaron en un modelo de ratón y, posteriormente, se mostró que SGS podría aumentar el daño sobre el ADN producido por el hidrocarburo aromático policíclico 3-metilcolantreno *in vitro*. La activación del AhR y la inducción de CYP1 parecen ser dependientes de la cepa de *S. gallolyticus* y potencialmente también podrían ser inducidas por otras bacterias intestinales.

Esto ofrece una teoría novedosa sobre la contribución de las bacterias intestinales a la etiología del CCR al modificar la capacidad de las células epiteliales o (pre)cancerosas del intestino para (des)toxificar los componentes de la dieta, lo que podría alterar la susceptibilidad intestinal a los eventos que dañan el ADN.

***Streptococcus agalactiae* strains isolated from cancer patients in Rio de Janeiro, Brazil**

Glenda de Figueiredo Sanches^{1,2}, Pamella Silva Lannes-Costa¹, Melissa Coimbra Cristoforêto¹, Kelly S. Doran², Ana Luíza Mattos-Guaraldi³, Prescilla Emy Nagao¹

1. Laboratório de Biologia Molecular e Fisiologia de Estreptococos, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rio de Janeiro State University, Rua São Francisco Xavier, 524 - PHLC 5o andar sala 501B-Maracanã, Rio de Janeiro, RJ CEP 20550-013, Brazil

2. Department of Immunology and Microbiology, University of Colorado School of Medicine, Aurora, CO, USA

3. Faculdade de Ciências Médicas, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Brazilian Journal of Microbiology (2021) 52:303–310

<https://doi.org/10.1007/s42770-020-00419-6>

Streptococcus agalactiae (GBS) is recognized as a pathogen that causes diseases in adults with comorbidities. A previous study performed in Brazil by the same authors demonstrated several cases of different types of infections in adult patients with solid tumors and/or use of indwelling medical devices. So in this research, authors focused on the epidemiological study of GBS isolates recovered from patients with cancer (n=55) that were attending at Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro metropolitan area, a Brazilian reference center coordinated by the Ministry of Health (MS/CONPREV) during a 3-year period (2013–2015). Cancer types included genitourinary, gastrointestinal, head and neck, respiratory, and hematological. Authors reported that GBS infections were observed among patients with solid tumors (72.7%) and hematologic disorders (5.5%) and occurred in most of the cancer patients (n = 43) presenting comorbidities, including systemic arterial hypertension and diabetes. Predominant serotypes were Ia (43.6%) and V (23.6%) followed by types II (14.6%), III (11%), IV (3.6%), VI (1.8%), and VII (1.8%). A correlation between *S. agalactiae* capsular types and neoplastic disorders was not currently identified. Only one strain was capsular type III/ST-17.

Resistance to tetracycline, azithromycin, erythromycin, and clindamycin was observed in 85.5%, 9%, 9%, and 5.5% of GBS strains, respectively, with only one multidrug resistant GBS strain. Norfloxacin non-susceptibility was detected in 7.3% of *S. agalactiae* strains.

Taking into account that fluoroquinolones have been used for prophylaxis against infections in cancer patients, authors suggested that the impact on the resistance mechanisms still require further investigation.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 7, N°4

December 2021

Virulence genes were detected in most of the isolates. The combination of PI-1 and PI-2a was the most common (60%) among *S. agalactiae* strains isolated from oncologic patients.

This article points out the need of doing epidemiological studies in GBS strains recovered for cancer patients in order to perform control measures.

***Streptococcus agalactiae* aislados de pacientes con cáncer en Río de Janeiro, Brasil**

Streptococcus agalactiae (GBS) es un reconocido patógeno que causa infecciones en adultos con comorbilidades. Estudios previos realizados en Brasil por los autores de este artículo revelan casos de infecciones en adultos de diferente tipo en pacientes que poseen tumores sólidos o dispositivos médicos permanentes. En este trabajo los autores se focalizaron en el estudio de la epidemiología de GBS que fueron recolectados de pacientes con cáncer (n=55) que concurrieron al Instituto Nacional de Cáncer de Río de Janeiro, centro de referencia coordinado por el Ministerio de salud de ese país. Este estudio se realizó durante 2013-2015.

Los tipos de cáncer incluidos fueron el genitourinario, gastrointestinal, de cabeza y cuello, respiratorio y hematológico. Las infecciones por GBS se observaron en pacientes con tumor sólido (72%) y desórdenes hematológicos (5,5%) y ocurrieron en la mayoría de los pacientes con cáncer que presentaron comorbilidades (n=43), entre ellas hipertensión arterial sistémica y diabetes.

Los serotipos prevalentes fueron Ia (43,6%) y V (23,6%) seguidos de los serotipos II (14,6%), III (11%), IV (3,6%), VI (1,8%) y VII (1,8%). No se encontró correlación entre GBS y serotipo capsular y desórdenes neoplásicos. Se encontró un solo GBS perteneciente al serotipo III/secuenciotipo 17.

La resistencia detectada incluyó a tetraciclina, azitromicina, eritromicina y clindamicina en 85,5%, 9%, 9% y 5,5% de las cepas de GBS respectivamente. En un solo caso se detectó multirresistencia). La resistencia a norfloxacin fue detectada en el 7,3% de los GBS, y teniendo en cuenta que las fluoroquinolonas se usan de manera profiláctica en infecciones de pacientes con cáncer, los autores sugieren estudiar el impacto de la resistencia a norfloxacin.

La mayoría de los aislamientos presentaron factores de virulencia. Se detectó la combinación de los *pili* PI-1 y PO-2a en el 60% de los GBS de pacientes oncológicos. Por último, teniendo en cuenta los resultados, los autores puntualizan la necesidad de realizar estudios epidemiológicos de GBS que incluyan aislamientos de pacientes que posean cáncer para poder implementar medidas de control adecuadas.