

# LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 8, N°2

June 2022

**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 8, N°2

June 2022

**Detection of  $\beta$ -lactamase-producing *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates in human invasive infections in the public hospital of Tandil, Argentina**

**Celia M. Schell<sup>1</sup>, Ana P. Tedim<sup>2,3</sup>, Mercedes Rodríguez-Baños<sup>2</sup>, Mónica D. Sparo<sup>1,4</sup>, Sabina Lissarrague<sup>4</sup>, Juan A. Basualdo<sup>1</sup> and Teresa M. Coque<sup>2,3,5\*</sup>**

<sup>1</sup> Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos (CUDEMyP), Centro Universidad Nacional de La Plata asociado a la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. Av. 60 y 120 s/n, 3er piso, CP 1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina; schellcelia@gmail.com or schellcelia@med.unlp.edu.ar (C.M.S.); monicasparo@gmail.com (M.D.S.); jabasua@med.unlp.edu.ar (J.A.B.)

<sup>2</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Carretera de Colmenar, km. 9.1, Planta -1IZQ, 28034 Madrid, Spain; anspedrosa@gmail.com or assantos.iecscyl@saludcastillayleon.es (A.P.T.); merche1976es@yahoo.es (M.R.-B.)

<sup>3</sup> Centros de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBER-ESP), Av. Monforte de Lemos, 3-5. Pabellón 11. Planta 0, 28029 Madrid, Spain

<sup>4</sup> Laboratorio de Microbiología Clínica, Hospital Municipal Ramón Santamarina, Gral. Paz 1406, B7000 Tandil, Buenos Aires, Argentina; sabinalissarrague@gmail.com

<sup>5</sup> Unidad de Resistencia a Antibióticos y Virulencia Bacteriana asociada al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), 28006 Madrid, Spain

\* Correspondence: mariateresa.coque@salud.madrid.org or teresacoque@gmail.com; Tel.: +34-913-368-330

**Pathogens 2020; 9:142. doi:10.3390/9020142**

The aim of this study was to characterize 63 *Enterococcus* spp. strains (44 *Enterococcus faecalis* and 19 *Enterococcus faecium*) from human invasive infections in a medium-sized hospital (Hospital Municipal Ramón Santamarina de Tandil, Provincia de Buenos Aires, Argentina) between 2010 and 2014. The age of patients ranged from 16 to 92 years, most of them with an underlying disease (49%) and a history of antibiotic exposure (80%), mainly to ciprofloxacin (23.6%), cephalexin (18.2%) and ceftriaxone (14.5%). The mortality rate in this series was 27.3%. Species identification was performed by biochemical testing and MALDI-TOF-MS, antimicrobial susceptibility by disk-diffusion and/or epsilometry and clonal relatedness by PFGE (pulse-field gel electrophoresis), MLST (multilocus sequence typing) and BAPS (Bayesian analysis of the population structure) following standard guidelines.

The isolates were identified as *E. faecalis* and *E. faecium* at a 2:1 ratio. Approximately half of the *E. faecalis* isolates (47.7%) were susceptible to all antibiotics tested. HLR to gentamicin (43.2%), streptomycin (22.7%) or both (13.6%) and resistance to fluoroquinolones (20.4%, ciprofloxacin and levofloxacin), penicillin (11.4%) and chloramphenicol (2.3%) were detected. The production of  $\beta$ -lactamase was inferred for five isolates belonging to the ST9 clone, based on the 5 mm increase in the inhibition diameter to ampicillin-sulbactam compared to ampicillin, and was confirmed by a

positive nitrocefin test and the identification of the  $\beta$ -lactamase gene conferring resistance to aminopenicillins. *E. faecium* isolates were grouped in 10 PFGE-types showing a low rate of ampicillin resistance. Five vancomycin-resistant *E. faecium*, three *vanA* (ST792/ST25) and two *vanB* (ST25) were detected. The ST25 clone carried either *vanA* or *vanB* genes. The recovery of a bla<sup>+</sup>-ST9-*E. faecalis* clone similar to that described in the late 1980s in Argentina suggests the possibility of a local hidden reservoir. These results reflect the relevance of local epidemiology in understanding the population structure of enterococci as well as the emergence and spread of antimicrobial resistance in predominant enterococcal clonal lineages.

## **Detección de aislados de *Enterococcus faecalis* productores de $\beta$ -lactamasa y *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina en infecciones invasivas humanas en el hospital público de Tandil, Argentina**

El objetivo de este estudio fue caracterizar 63 aislados de *Enterococcus* spp. (44 *Enterococcus faecalis* y 19 *Enterococcus faecium*) obtenidos de pacientes con infecciones invasivas que se atendieron en un hospital de mediano tamaño (Hospital Municipal Ramón Santamarina de Tandil, Provincia de Buenos Aires, Argentina) entre 2010 y 2014. La edad de los pacientes osciló entre 16 y 92 años; la mayoría tenía alguna enfermedad de base (49%) y algún antecedente de exposición a antibióticos (80%), principalmente a ciprofloxacina (23,6%), cefalexina (18,2%) y ceftriaxona (14,5%). La tasa de mortalidad en esta serie fue del 27,3%. La identificación de especies se realizó por pruebas bioquímicas y MALDI-TOF-MS, la sensibilidad a los antibióticos se determinó por el método de difusión con discos y/o epsilometría. La relación clonal se determinó, de acuerdo con las pautas estándar, por PFGE (*pulse-field gel electrophoresis*), MLST (*multilocus sequence typing*) y BAPS (*Bayesian analysis of the population structure*).

Los aislados se identificaron como *E. faecalis* y *E. faecium* en una proporción de 2:1. Aproximadamente la mitad de los de *E. faecalis* (47,7%) fueron sensibles a todos los antibióticos probados. Se detectó HLR a gentamicina (43,2%), estreptomicina (22,7%) o ambas (13,6%) y resistencia a fluoroquinolonas (20,4%, ciprofloxacina y levofloxacina), penicilina (11,4%) y cloranfenicol (2,3%). Se infirió la producción de  $\beta$ -lactamasa para cinco aislados pertenecientes al clon ST9, basada en el aumento de 5 mm en el diámetro de inhibición a ampicilina-sulbactam en comparación con ampicilina, y se confirmó por una prueba positiva de nitrocefin y la identificación del gen de la  $\beta$ -lactamasa que confiere resistencia a las aminopenicilinas por PCR y secuenciación. Los aislados de *E. faecium* se agruparon en 10 tipos de PFGE que mostraron una baja tasa de resistencia a la ampicilina. Se detectaron cinco *E. faecium* resistentes a vancomicina, tres *vanA* (ST792/ST25) y dos *vanB* (ST25). El clon ST25 portaba genes *vanA* o *vanB*. La recuperación de un clon bla<sup>+</sup>-ST9-*E. faecalis* similar al descrito a fines de la década de 1980 en la Argentina sugiere la posibilidad de un reservorio oculto local. Estos resultados reflejan la relevancia de la epidemiología local para comprender la estructura de la población de enterococos, así como la aparición y propagación de la resistencia a los antimicrobianos en los linajes clonales predominantes.

# LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 8, N°2

June 2022

## Development of High-Level Daptomycin Resistance in *Abiotrophia* and *Granulicatella* Species Isolates from Patients with Infective Endocarditis

**María A. Cañas,<sup>a</sup> Adrian Téllez,<sup>a</sup> Cristina García de la Mària,<sup>a</sup> Anders Dahl,<sup>a,b</sup> Javier García-González,<sup>a</sup> Marta Hernández-Meneses,<sup>a</sup> Manel Almela,<sup>a</sup> Juan Ambrosioni,<sup>a</sup> Carlos Falces,<sup>a</sup> Eduard Quintana,<sup>a</sup> Barbara Vidal,<sup>a</sup> Andres Perissinotti,<sup>a,c</sup> José M. Tolosana,<sup>a</sup> Elena Sandoval,<sup>a</sup> Juan M. Pericàs,<sup>a</sup> Asunción Moreno,<sup>a</sup> José M. Miró,<sup>a</sup> on behalf of the Hospital Clínic Endocarditis Team Investigators**

<sup>a</sup>Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>b</sup>Department of Cardiology, Bispebjerg Hospital, Copenhagen, Denmark

<sup>c</sup>Biomedical Research Networking Center of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Barcelona, Spain

<https://doi.org/10.1128/AAC.02522-20>

*Abiotrophia defectiva* and *Granulicatella* species are fastidious, slow-growing and difficult to identify pathogens make up part of the normal human microbiota, however, they are responsible for serious infections such as pneumonia, sepsis and infective endocarditis (IE). IE caused by *Abiotrophia* and *Granulicatella* accounts for about 1% to 3% of all IE cases, and is associated with significant morbidity and mortality. International guidelines recommend combination therapy of penicillin, ceftriaxone, or vancomycin plus gentamicin (due to resemblance to streptococcal species), however, there is a lack of evidence concerning the optimal treatment of IE caused by *A. defectiva* and *G. adiacens*, and therefore the potential role of daptomycin should be considered.

This study describes the antimicrobial profile of 16 isolates associated with IE episodes: 6 strains of *A. defectiva* (37.5%), 9 strains of *G. adiacens* (56.3%) and 1 strain of *G. elegans* (6.2%), high-level resistance to daptomycin (HLDR) is investigated and the activity of daptomycin in combination therapy is evaluated. Daptomycin Nonsusceptibility (DNS) (MIC  $\geq$  2 mg/liter) and HLDR (MIC  $\geq$  256 mg/liter) criteria were based on Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoints for viridans group streptococci.

The distribution of DNS and HLDR after subculture of the strains with inhibitory concentrations of daptomycin showed that *A. defectiva* has higher DNS rates than *G. adiacens* (67% versus 22%) while *G. adiacens* showed higher rates of development of HLDR than *A. defectiva* (78% versus 33%). The *G. elegans* strain in the collection developed DNS. All isolates were sensitive to vancomycin. *G. adiacens* was more susceptible to penicillin and ampicillin than *A. defectiva* (22% versus 0% and 67% versus 33%) but less susceptible to ceftriaxone and daptomycin (56% versus 83% and 11% versus 50%).

It is noteworthy that high-dose daptomycin monotherapy does not achieve a bactericidal effect and leads to the development of HLDR. The increases in MIC values

# LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 8, N°2

June 2022

of daptomycin, including the development of HLDR, were very rapid (24 to 48 h after exposure). The addition of ceftaroline, ceftriaxone, or gentamicin to daptomycin at inhibitory concentrations enhances the synergistic and bactericidal activity of daptomycin, but none of the antibiotic combinations were able to completely suppress the evolution of daptomycin resistance in vitro.

*Granulicatella* strains showed stable HLDR (3 to 4 weeks), and none of the strains returned to baseline MIC values. A less stable pattern was observed in *A. defectiva*, where the effect of HLDR was reversed around day 10 and MIC values returned to baseline MIC values. More studies are necessary to elucidate the molecular basis of daptomycin resistance in these microorganisms. In the meantime, patients with endocarditis caused by these strains should be treated with a combination of beta-lactams or vancomycin (in allergic patients) plus gentamicin.

## **Desarrollo de alto nivel de resistencia a la daptomicina en aislamientos de especies de *Abiotrophia* y *Granulicatella* de pacientes con endocarditis infecciosa**

*Abiotrophia defectiva* y especies de *Granulicatella* son patógenos fastidiosos, de crecimiento lento y de difícil identificación que forman parte de la microbiota normal humana, sin embargo, son responsables de infecciones graves como neumonía, sepsis y endocarditis infecciosa (EI). El causada por *Abiotrophia* y *Granulicatella* representa alrededor del 1% al 3% de todos los casos de EI, y se asocia a una morbilidad y mortalidad significativas.

Las guías internacionales recomiendan la terapia combinada de penicilina, ceftriaxona, o vancomicina más gentamicina (debido al parecido a las especies estreptocócicas), sin embargo, hay una falta de evidencia sobre el tratamiento óptimo de la EI causada por *A. defectiva* y *G. adiacens*, y por tanto, se debe considerar el papel potencial de la daptomicina.

En el presente estudio se describe el perfil antimicrobiano de 16 aislamientos asociadas a episodios de EI: 6 cepas de *A. defectiva* (37,5%), 9 cepas de *G. adiacens* (56,3%) y 1 cepa de *G. elegans* (6,2%), se investiga la resistencia de alto nivel a la daptomicina (HLDR) y se evalúa la actividad de daptomicina en terapia combinada.

Los criterios de No sensibilidad a la Daptomicina (DNS) (MIC  $\geq$  2 mg/litro) y HLDR (MIC  $\geq$  256 mg/litro) se basaron en Puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para estreptococos del grupo viridans.

La distribución de DNS y HLDR después del subcultivo de las cepas con concentraciones inhibitorias de daptomicina mostraron que *A. defectiva* tiene tasas de DNS más altas que *G. adiacens* (67% versus 22%) mientras que *G. adiacens* mostró tasas más altas de desarrollo de HLDR que *A. defectiva* (78% versus 33%). La cepa *G. elegans* de la colección desarrolló DNS.

Todos los aislamientos fueron sensibles a la vancomicina. *G. adiacens* fue más susceptible a penicilina y ampicilina que *A. defectiva* (22% versus 0% y 67% versus 33%) pero menos susceptible a ceftriaxona y daptomicina (56% versus 83% y 11% versus 50%).

# LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 8, N°2

June 2022

Es de destacar que la dosis alta de daptomicina en monoterapia no logra un efecto bactericida y genera el desarrollo de HLDR. Los aumentos en valores de CIM de daptomicina, incluido el desarrollo de HLDR, fueron muy rápidos (24 a 48 h después de la exposición). La adición de ceftarolina, ceftriaxona o gentamicina a la daptomicina en concentraciones inhibitorias mejora la actividad sinérgica y bactericida de la daptomicina, pero ninguno de las combinaciones de antibióticos tuvieron la capacidad de suprimir completamente la evolución de la resistencia a la daptomicina in vitro.

Las cepas de *Granulicatella* mostraron HLDR estable (3 a 4 semanas), y ninguna de las cepas volvió a los valores de CIM de referencia. Se observó un patrón menos estable en *A. defectiva*, donde el efecto de HLDR se revirtió alrededor del día 10 y los valores de CIM volvieron a los valores de CIM de referencia.

Son necesarios más estudios para dilucidar la base molecular de la resistencia a la daptomicina en estos microorganismos. Mientras tanto, los pacientes con endocarditis causada por estas cepas deben ser tratados con una combinación de betalactámicos o vancomicina (en pacientes alérgicos) más gentamicina.

# LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 8, N°2

June 2022

## Clinical and microbiological characterization of *Aerococcus urinae* bacteraemias at Helsinki metropolitan area, Finland

Reetta Sihvonen<sup>1,2</sup>, Maria Turunen<sup>1</sup>, Laura Lehtola<sup>3</sup>, Laura Pakarinen<sup>3</sup>, Juha O. Grönroos<sup>4</sup>, Kaisu Rantakokko-Jalava<sup>4</sup>, Anu Pätäri-Sampo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Microbiology, HUSLAB, University of Helsinki and Helsinki University Hospital, HUS Diagnostic Center, Haartmaninkatu 3, N00029 HUS, Helsinki, Finland

<sup>2</sup> Faculty of Biological and Environmental Sciences, Molecular and Integrative Biosciences Research Programme, University of Helsinki, Helsinki, Finland

<sup>3</sup> Department of Infectious Diseases, Inflammation Center, Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finland

<sup>4</sup> Clinical Microbiology, Turku University Hospital and University of Turku, Turku, Finland

**Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2022; 41:751–60.**

*Aerococcus urinae*, a gram-positive coccus, causes urinary tract infections and invasive infections like bacteraemia and infective endocarditis, especially among the elderly and patients with urological predisposing conditions. Aerococci are catalase negative and resemble  $\alpha$ -hemolytic streptococci when growing on blood agar plate but, in Gram staining, cells appear in clusters like staphylococci. The EUCAST recently released clinical breakpoints for *Aerococcus urinae* against certain penicillins, fluoroquinolones, meropenem, vancomycin, nitrofurantoin, and rifampicin, but not for cephalosporins. The objective of this study was to assess the incidence of bacteraemic *A. urinae* cases at Helsinki metropolitan area, Finland, from a 6-year study period (2013 to 2018). The study evaluates the outcome of cefuroxime treatment, commonly used in Finland for empiric starting therapy for community-acquired bacteraemias and determinants a set of *A. urinae in vitro* antimicrobial susceptibilities for benzylpenicillin, cefuroxime, and ceftriaxone. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion, gradient test, and broth microdilution for 139–141 clinical *A. urinae* isolates.

An increasing number of bacteraemic *A. urinae* cases within the 6-year study period was found. The patients were mainly elderly males, and all suffered from underlying conditions. A total of 27.3% of cases (21/77) showed polymicrobial blood cultures. Thirty-day mortality was 22.1%. Cefuroxime was the initial empiric antimicrobial agent given for 66/76 of the patients and treatment outcome was favorable for 20/22 patients who received cefuroxime at least up to day 5. All isolates were susceptible to benzylpenicillin and cefuroxime, while 2.1-2.9% of the isolates were resistant to ceftriaxone. EUCAST PK-PD breakpoints were used to interpret cefuroxime ( $S \leq 4$ ,  $R > 8$ ) and ceftriaxone ( $S \leq 1$ ,  $R > 2$ ) MICs. To conclude, it seems that the number of bacteraemic *A. urinae* cases is increasing in the Helsinki metropolitan area, Finland, reflecting the growing blood culture sampling. Treatment data indicate that empirical

cefuroxime started for possibly urinary tract-derived community-acquired bacteraemia that covers *A. urinae*.

## **Caracterización clínica y microbiológica de bacteriemias por *Aerococcus urinae* en el área metropolitana de Helsinki, Finlandia**

*Aerococcus urinae* es un coco gram positivo que causa infecciones del tracto urinario e infecciones invasivas como bacteriemia y endocarditis infecciosa, especialmente en ancianos y pacientes con condiciones urológicas predisponentes. Los aerococos son catalasa negativos y se asemejan a los estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos cuando crecen en agar sangre, pero en la tinción de Gram aparecen en racimos como los estafilococos. El EUCAST publicó recientemente puntos de corte clínicos de ciertas penicilinas, fluoroquinolonas, meropenem, vancomicina, nitrofurantoína y rifampicina para *Aerococcus urinae*, pero no de cefalosporinas. El objetivo de este estudio fue evaluar la incidencia de bacteriemia por *A. urinae* en el área metropolitana de Helsinki, Finlandia, durante un período de 6 años (2013 a 2018). En este estudio también se evaluó el resultado del tratamiento con cefuroxima, comúnmente utilizado en Finlandia como terapia empírica inicial para las bacteriemias adquiridas en la comunidad y se determinó la sensibilidad de *A. urinae* a bencilpenicilina, cefuroxima y ceftriaxona. Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos se realizaron mediante difusión con discos, prueba de gradiente y microdilución en caldo para 139–141 aislamientos clínicos de *A. urinae*. Se encontró un número creciente de casos de bacteriemia por *A. urinae* dentro del período de estudio de 6 años. Los pacientes eran principalmente hombres de edad avanzada y todos padecían enfermedades subyacentes. El 27,3% de los casos (21/77) presentaron hemocultivos polimicrobianos. La mortalidad a los 30 días fue del 22,1%. La cefuroxima fue el agente antimicrobiano empírico inicial administrado a 66/76 de los pacientes y el resultado del tratamiento fue favorable para 20/22 pacientes que recibieron cefuroxima al menos hasta el día 5. Todos los aislados fueron sensibles a la bencilpenicilina y a cefuroxima, mientras que 2,1-2,9 % de los mismos fueron resistentes a ceftriaxona. Se utilizaron los puntos de corte PK-PD del EUCAST para interpretar las CIM de cefuroxima ( $S \leq 4$ ,  $R > 8$ ) y ceftriaxona ( $S \leq 1$ ,  $R > 2$ ). Para concluir, parecería que el número de casos de bacteriemia por *A. urinae* estaría aumentando en el área metropolitana de Helsinki, Finlandia, lo que podría reflejar el número creciente de hemocultivos extraídos. Los resultados del tratamiento indicaron que la cefuroxima empírica iniciada para una posible bacteriemia adquirida en la comunidad de origen urinario tendría cobertura para *A. urinae*.