

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

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

Mollerach, Marta

Gagetti, Paula

Toresani, Inés

García Gabarrot, Gabriela

Vigliarolo, Laura

Kaufman, Sara

Von Specht, Martha

Lopardo, Horacio

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis

Coker OO¹, Dai Z¹, Nie Y², Zhao G³, Cao L¹, Nakatsu G¹, Wu WK¹, Wong SH¹, Chen Z⁴, Sung JY¹, Yu J¹

1. Department of Medicine and Therapeutics, Institute of Digestive Disease, State Key Laboratory of Digestive Disease, Li Ka Shing Institute of Health Sciences, CUHK Shenzhen Research Institute, the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China

2. State Key Laboratory of Cancer Biology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xian, China

3. Department of Gastroenterology and Hepatology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, China

4. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China

Gut. 2018 Jun; 67:1024-32. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314281

Authors performed 16S rRNA gene analysis of gastric mucosal samples from 81 cases including superficial gastritis (SG), atrophic gastritis (AG), intestinal metaplasia (IM) and gastric cancer (GC), to determine mucosal microbiome dysbiosis across stages of GC. They validated their results in other mucosal samples of 126 cases from Inner Mongolia, China. They observed significant mucosa microbial dysbiosis in IM and GC subjects, with significant enrichment of 21 and depletion of 10 bacterial taxa in GC compared with SG ($q < 0.05$). Microbial analysis showed increasing correlation strengths among them with disease progression ($p < 0.001$). Five GC-enriched bacterial taxa: *Peptostreptococcus stomatis*, ***Streptococcus anginosus***, *Parvimonas micra*, *Slackia exigua* and *Dialister pneumosintes* were observed in the GC ecological network ($p < 0.05$) and classified GC from SG with an area under the receiver operating curve (AUC) of 0.82. Moreover, stronger interactions among gastric microbes were observed in *Helicobacter pylori*-negative samples compared with *H. pylori*-positive samples in SG and IM. The fold changes of selected bacteria, and strengths of their interactions were successfully validated in the Inner Mongolian cohort, in which the five bacterial markers distinguished GC from SG with an AUC of 0.81. Authors concluded that in addition to microbial compositional changes, differences in bacterial interactions across stages of gastric carcinogenesis were identified. The significant enrichments and network centralities suggest potentially important roles of *P. stomatis*, *D. pneumosintes*, *S. exigua*, *P. micra* and ***S. anginosus*** in GC progression.

Disbiosis del microbioma de la mucosa en la carcinogénesis gástrica

Los autores realizaron el análisis del gen 16S rRNA de muestras de la mucosa gástrica de 81 casos, incluyendo gastritis superficial (GS), gastritis atrófica (GA), metaplasia intestinal (MI) y cáncer gástrico (CG). Su objetivo era determinar la disbiosis del microbioma de la mucosa a

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

través de las etapas del CG. Validaron sus resultados en otras muestras de mucosa de 126 casos provenientes de Mongolia Interior, China. Ellos observaron disbiosis microbiana de la mucosa en sujetos con MI y CG, con un enriquecimiento significativo de 21 y depleción de 10 taxones bacterianos en CG en comparación con GS ($p < 0,05$). El análisis microbiano mostró un incremento en la correlación entre ellos y la progresión de la enfermedad ($p < 0,001$). Cinco taxones bacterianos aparecieron enriquecidos en CG: *Peptostreptococcus stomatis*, ***Streptococcus anginosus***, *Parvimonas micra*, *Slackia exigua* y *Dialister pneumosintes* ($p < 0,05$) y diferenciaron GC de GS con un área bajo la curva de aceleración de recepción (AUC) de 0,82. Por otra parte, las interacciones más fuertes entre bacterias gástricas se observaron en muestras negativas para *Helicobacter pylori* en comparación con muestras positivas en GS y MI. Los cambios de bacterias seleccionadas y las fortalezas de sus interacciones se validaron con éxito en la cohorte de Mongolia Interior, en la que las cinco bacterias marcadoras distinguieron CG de GS con un AUC de 0,81.

Los autores concluyeron que, además de los cambios en la composición microbiana, se identificaron diferencias en las interacciones bacterianas a través de las etapas de la carcinogénesis gástrica. Los enriquecimientos significativos y su centralidad en la red microbiana sugieren roles potencialmente importantes de *P. stomatis*, *D. pneumosintes*, *S. exigua*, *P. micra* y ***S. anginosus*** en la progresión del CG.

***Streptococcus agalactiae* carriage among pregnant women living in Rio de Janeiro, Brazil, over a period of eight years.**

Botelho ACN¹, Oliveira JG¹, Damasco AP¹, Santos KTB¹, Ferreira AFM¹, Rocha GT¹, Marinho PS², Bornia RBG², Pinto TCA¹, Americo MA¹, Fracalanza SEL¹, Teixeira LM^{1*}

1. Departamento de Microbiologia Medica, Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

2. Hospital Maternidade Escola, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

PLoS ONE 13(5): e0196925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196925>

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus*, GBS) remains as a major cause of morbidity and mortality among newborns in many countries. Pregnant women asymptotically colonized by GBS in the genitourinary and/or gastrointestinal tracts are the main reservoir of this microorganism, and early-onset GBS neonatal sepsis, is usually a consequence of vertical transmission during labor. Two main approaches are available to select patients to be submitted to intrapartum antibiotic prophylaxis (IAP): the risk-based and the culture-based ^o strategies. In Brazil, compliance to such recommendations is poor, and not much is known about GBS carriage.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

The aim of the study was to evaluate the occurrence, serotype distribution and antimicrobial susceptibility profiling of GBS isolates recovered from pregnant women attended at a public maternity in Rio de Janeiro State, Brazil, during 8 years, and analyze the association of clinical, social and demographic aspects with GBS colonization. A total of 3,647 pregnant women (35th - 37th gestational weeks) were screened for GBS anogenital colonization, over the period 2008–2015. A single ano-vaginal specimen was collected from each patient according to CDC recommendations. Laboratory procedures followed conventional techniques and serotypes were determined by the Ouchterlony double immunodiffusion method. The age of the participants ranged from 12 to 48 years (mean: 28.26; standard deviation \pm 6.2). Cephalixin and nitrofurantoin were the most used antimicrobials during pregnancy. Arterial hypertension and gestational diabetes were the most frequent maternal pathologies observed. Eight patients reported previous neonatal death due to GBS infections, and three of them were colonized by GBS in the current pregnancy. GBS was detected in 956 (26.2%) patients. Presence of vaginal discharge was the only trait associated with a higher risk for GBS colonization ($p = 0.003$) and a trend for an association between white ethnicity and lower GBS colonization rates was observed ($p = 0.057$). One hundred and twenty six (13.7%) of the 956 colonized women did not present any clinical risk factor associated with GBS carriage. Serotypes Ia (257; 37.3%) and II (137; 19.9%) were the most frequent among 689 (72.1% of the total) GBS isolates evaluated, followed by NT (84; 12.1%), Ib (77; 11.1%), V (63; 9.1%), III (47; 6.8%) and IV (24; 3.5%); Serotypes VI, VII and VIII were not detected. Estimated coverage of major serotype-based GBS vaccines currently under clinical trials would vary from 65.2% to 84.3%. All 689 isolates tested were susceptible to ampicillin and vancomycin. Resistance to chloramphenicol, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, and tetracycline was observed in 5% (35), 2% (14), 14% (97), 5% (35) and 86% (592) SGB respectively. No significant fluctuations in colonization rates, serotype distribution and antimicrobial susceptibility profiles were observed. The culture-based approach for IAP recommendation showed to be the best choice for the population investigated when compared to the risk-based, since the first did not increase the number of pregnant women submitted to antibiotic therapy and covered a larger number of women who were actually colonized by GBS. Authors believe that of the two limitations of the study were that not all isolates were available for additional characterization, and serotype IX antiserum was not available for testing. This is the largest investigation on GBS carriage among pregnant women in Brazil up to date, and results are useful for improving GBS prevention and treatment strategies.

Portación de *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas que viven en Río de Janeiro, Brasil, durante un período de ocho años.

Streptococcus agalactiae (estreptococos del grupo B, SGB) sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en recién nacidos en muchos países. La colonización asintomática del tracto genitourinario o gastrointestinal de mujeres embarazadas es el principal reservorio de este microorganismo, y la sepsis neonatal por GBS de inicio temprano, generalmente es una consecuencia de la transmisión vertical durante el trabajo de parto. Hay dos tipos de estrategias principales disponibles para seleccionar a los pacientes que se

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

someterán a la profilaxis antibiótica intraparto (PAI): las basadas en el riesgo y las basadas en el cultivo. En Brasil, el cumplimiento de tales recomendaciones es deficiente, y no se sabe mucho sobre la portación de GBS. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia, la distribución de serotipos y el perfil de sensibilidad antimicrobiana de aislamientos de SGB recuperados de mujeres embarazadas atendidas en una maternidad pública en el estado de Río de Janeiro, Brasil, durante 8 años y analizar la asociación de factores clínicos, sociales y aspectos demográficos con la colonización por SGB. Se estudiaron 3.647 mujeres embarazadas de 35 a 37 semanas de gestación durante el período 2008-2015. Se recolectó una sola muestra de hisopado ano-vaginal de cada paciente de acuerdo con las recomendaciones de los CDC. Los procedimientos de laboratorio utilizaron técnicas convencionales y los serotipos se determinaron mediante el método de inmunodifusión doble de Ouchterlony. La edad de los participantes varió de 12 a 48 años (media: 28,26; desviación estándar \pm 6,2). Cefalexina y nitrofurantoína fueron los antimicrobianos más utilizados durante el embarazo. La hipertensión arterial y la diabetes gestacional fueron las patologías maternas más frecuentes. En ocho pacientes se registró muerte neonatal previa debido a infecciones por SGB, y tres de ellas estuvieron colonizadas en el embarazo actual. Se detectó SGB en 956 (26,2%) pacientes. La presencia de secreción vaginal fue el único rasgo asociado a un mayor riesgo de colonización ($p = 0,003$) y se observó una tendencia a una asociación entre la etnia blanca y las tasas de colonización más bajas ($p = 0,057$). Ciento veintiséis (13,7%) de las 956 mujeres colonizadas no presentaron ningún factor de riesgo clínico asociado con la portación de GBS. Los serotipos Ia (257; 37,3%) y II (137; 19,9%) fueron los más frecuentes en 689 (72,1% del total) aislamientos de GBS evaluados, seguidos de NT (84; 12,1%), Ib (77; 11,1%), V (63, 9,1%), III (47, 6,8%) y IV (24, 3,5%); no se detectaron los serotipos VI, VII y VIII. La cobertura estimada de las principales vacunas SGB basadas en serotipos, actualmente en ensayos clínicos, podría variar de 65,2% a 84,3%. Los 689 aislamientos ensayados fueron sensibles a ampicilina y vancomicina. Se observó resistencia a cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, levofloxacina y tetraciclina en 5% (35), 2% (14), 14% (97), 5% (35) y 86% (592) SGB respectivamente. No se observaron cambios significativos en las tasas de colonización, distribución de serotipos y perfiles de sensibilidad antimicrobiana. La estrategia para la recomendación de PAI basada en el cultivo, demostró ser la mejor opción para la población investigada en comparación con la basada en factores de riesgo, ya que la primera no generó aumento en el número de mujeres embarazadas sometidas a terapia con antibióticos y cubrió un mayor número de mujeres portadoras. Los autores creen que dos de las limitaciones del estudio fueron que no todos los aislamientos estaban disponibles para la caracterización adicional como tampoco contaban con antisuero para el serotipo IX. Hasta la fecha, este es el estudio más grande sobre portación de SGB en mujeres embarazadas en Brasil cuyos hallazgos son útiles para mejorar las estrategias de prevención y tratamiento de SGB.

Pneumococcal Phenotype and Interaction with Nontypeable Haemophilus influenzae as Determinants of Otitis Media Progression

Lewnard JA¹, Givon-Lavi N², Tähtinen PA^{3,4}, Dagan R²

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

1. Center for Communicable Disease Dynamics, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA
2. Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beersheba, Israel
3. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Turku University Hospital, Turku, Finland
4. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University of Turku, Turku, Finland

Infection and Immunity June 2018 Volume 86 doi:10.1128/IAI.00727-17

Streptococcus pneumoniae and nontypeable *Haemophilus influenzae* (NTHi) are the pathogens most commonly isolated from middle-ear fluid (MEF) in otitis media (OM). Since nearly all children carry *S. pneumoniae* and NTHi in the first years of life, the factors influencing progression from colonization to OM are ideal targets for treating or preventing disease.

All-cause OM incidence has declined because of the following introduction of pneumococcal conjugate vaccines (PCVs) despite increases in carriage of nonvaccine pneumococcal serotypes that scape immune pressure. To understand the basis for the declining incidence, it was assessed the intrinsic capacity of pneumococcal serotypes to cause OM independently and in polymicrobial infections involving nontypeable NTHi using samples obtained from middle ear fluid and nasopharyngeal cultures before PCV7/13 rollout.

Isolates from MEF and asymptomatic nasopharyngeal colonization were analyzed to better understand bacterial determinants of progression to complex OM. Using epidemiological surveillance data from southern Israel prior to PCV7/13 introduction, it was compared the pneumococcal serotype distributions of single-species and mixed species not only in the carriage itself, but also in OM, and measured pathogen-specific rates of OM progression from asymptomatic colonization.

Nasopharyngeal carriage of *S. pneumoniae* and NTHi was monitored among PCV7/13-unvaccinated children who were 2 to 18 months of age and were enrolled in a randomized trial of PCV7 dosing strategies between 2005 and 2008. The samples submitted from children totalled 1,588; among those, *S. pneumoniae* was detected in 743 (46.8%) swabs, NTHi was detected in 524 (33.0%) swabs, and the two species were coisolated in 376 (23.7%). A 10-year prospective study of the incidence of severe OM cases necessitating MEF planting (as indicated by complex manifestations [detailed in Materials and Methods]) supplied samples totalling 11,811 cases, with 4,165 (35.3%) positive for *S. pneumoniae*, 4,813 (40.8%) positive for NTHi, and 1,589 (13.5%) positive for the two species.

Whereas serotype diversity was lower in the presence of NTHi during colonization, an opposite relationship was seen in MEF isolates, where diversity was significantly lower in single-species than in mixed-species infections (P 0.022).

It was identified lower divergence between serotype distributions of mixed-species carriage and OM than between serotype distributions of single-species carriage and mixed species OM (P 0.01)—a finding that supports the idea of serotype-specific polymicrobial interactions in carriage as the basis for patterns of cooccurrence in disease.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

Serotype differences in progression for mixed-species episodes were attenuated in comparison to differences in progression for single-species episodes. It was identified lower progression rates in mixed-species episodes involving serotypes that tended otherwise to be virulent when they colonized in the absence of NTHi, including 6A, 6B, 14, 18C, 17F, 19A, 19F, and 31. Serotypes 1, 3, 5, 7B, 7F, and 24F showed the greatest virulence as causes of single-species infections; in addition, serotypes 8, 15B/C, and 33F showed particularly high rates of mixed-species progression with NTHi. Vaccine serotype pneumococci had higher rates of progression than nonvaccine serotypes, and those differences were attenuated in polymicrobial episodes. Taken together, the findings substantiate the role of bacterial factors, including serotype-specific interactions with NTHi, in the pathogenesis of complex pneumococcal OM. This finding of lower virulence among nonvaccine replacement serotypes helps to account for overall reductions in OM incidence following vaccine introduction.

Interacción entre el fenotipo de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no tipificable como determinantes de la progresión de la otitis media.

Streptococcus pneumoniae y *Haemophilus influenzae* no tipificable (NTHi) son los patógenos más comúnmente aislados del líquido del oído medio (MEF) en otitis media (OM).

Casi todos los niños portan *S. pneumoniae* y NTHi en los primeros años de vida y los factores que influyen en la progresión de la colonización a la OM son objetivos ideales para tratar o prevenir enfermedades.

La incidencia de OM ha disminuido después de la introducción de las vacunas conjugadas neumocócicas (PCV) a pesar de los aumentos en el transporte de serotipos neumocócicos no vacunales que escapan de la presión inmune

Para entender la base de la incidencia decreciente, se evaluó en este estudio la capacidad intrínseca de serotipos neumocócicos para causar OM de forma independiente y en infecciones polimicrobianas involucrando NTHi, usando para ello muestras obtenidas del fluido del oído medio y de la nasofaringe de niños antes del lanzamiento de PCV7/13.

Se analizaron aislamientos de MEF y colonización nasofaríngea asintomática para comprender mejor los determinantes bacterianos de la progresión a OM. Para ello, se usaron datos epidemiológico de vigilancia del sur de Israel antes de la introducción de PCV7/13, y se comparó las distribuciones de serotipos neumocócicos de especies únicas y de especies mixtas, tanto en el transporte como en OM y se midió las tasas específicas de patógenos en la progresión a OM a partir de colonización asintomática. Se monitorizó el transporte nasofaríngeo de *S. pneumoniae* y NTHi entre niños no vacunados con PCV7/13 que tenían entre 2 y 18 meses de edad y estaban inscriptos en un ensayo aleatorizado de estrategias de dosificación de PCV7 entre 2005 y 2008. En un total de 1588 muestras de niños; se detectó *S. pneumoniae* en 743 (46.8%) hisopos, se detectó NTHi en 524 (33.0%) hisopos, y las dos especies se co-aislaron en 376 (23.7%) hisopos. Por su parte, un estudio prospectivo de 10 años de incidencia de casos graves de MO que requieren cultivo de MEF suministró un total de 11811 casos, con 4165 (35,3%) positivos para *S. pneumoniae*, 4813 (40,8%) positivos para NTHi, y 1589 (13.5%) positivos para las dos especies.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 4, N°2

Junio 2018

Mientras que la diversidad de serotipos fue menor en presencia de NTHi durante la colonización, se observó una relación opuesta en los aislados de MEF, donde la diversidad fue significativamente menor en una sola especie que en infecciones de especies mixtas (P 0.022). Se observó una menor divergencia entre las distribuciones de serotipos durante el transporte y OM cuando hay especies mixtas, que entre las distribuciones de serotipos del transporte de una sola especie y especies mixtas en OM (P 0.01): un hallazgo que respalda la idea de interacciones polimicrobianas serotipo específico en el transporte como la base de los patrones de coincidencia en la enfermedad.

Se identificaron menores tasas de progresión en episodios de especies mixtas que involucran serotipos que tendieron de otra manera a ser virulentos cuando colonizan en ausencia de NTHi, incluyendo 6A, 6B, 14, 18C, 17F, 19A, 19F y 31.

Los serotipos 1, 3, 5, 7B, 7F y 24F mostraron la mayor virulencia como causas de infecciones de una sola especie; en adición, los serotipos 8, 15B/C y 33F mostraron tasas particularmente altas de progresión de especies mixtas con NTHi. Los serotipos de neumococos incluidos en la vacuna tuvieron tasas más altas de progresión que los serotipos no vacunales y esa progresión se atenuó en procesos polimicrobianos.

Tomados en conjunto, estos hallazgos corroboran el papel de los factores bacterianos, incluidas las interacciones serológicas específicas con NTHi, en la patogénesis de la OM neumocócica compleja. Estos hallazgos, que muestran el reemplazo de serotipos de menor virulencia ayudan a explicar la reducción general en la incidencia de OM después de la introducción de la vacuna.