

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

December 2015

Diciembre 2015

Vol 1, N°2

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

Bonofiglio, Laura

Mollerach, Marta

Gagetti, Paula

Vigliarolo, Laura

Kaufman, Sara

Von Specht, Martha

Lopardo, Horacio

Classification of group B streptococci with reduced β -lactam susceptibility (GBS-RBS) based on the amino acid substitutions in PBPs.

Kouji Kimura^{1*}, Noriyuki Nagano², Yoshichika Arakawa¹

¹Department of Bacteriology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan; ²Department of Health and Medical Sciences, Shinshu University Graduate School of Medicine, 3-1-1 Asahi, Matsumoto, Nagano 390-8621, Japan

J Antimicrob Chemother 2015; 70: 1601 –1603

Desde el año 2008 comenzaron a reportarse aislamientos de *Streptococcus agalactiae* (EGB) con sensibilidad disminuida a la penicilina (PRGBS) principalmente en Japón, Canadá y EE.UU. Tradicionalmente se aceptaba que la no sensibilidad a penicilina se detectaba cuando los aislamientos presentaban rangos de CIM 0,25-1 mg/l y luego se secuenciaba el gen de la PBP2X para corroborar si se detectaban sustituciones en los aminoácidos cercanos al sitio activo de la PBP2X, en particular la sustitución V405A y Q557E. Sin embargo se encontraron sustituciones en la PBP2X en aislamientos con sensibilidad a penicilina que poseían resistencia a ceftibuten y sustituciones en la PBP1A en aislamientos que poseían resistencia de alto nivel a cefalosporinas. Estos resultados evidenciaron que el análisis sólo de la sensibilidad mediante CIM no era suficiente para asignar sensibilidad disminuida a penicilina. Es por ello que los autores de este artículo comenzaron a estudiar las sustituciones en otras PBP además de la PBP2X en aislamientos con resistencia a cualquiera de los β -lactámicos para poder realizar una nueva clasificación que se basara en características moleculares. La clasificación propuesta permite dividir a los aislamientos en 4 grupos (I al IV) donde en el grupo I se incluyen a los aislamientos que poseen sustituciones en la PBP2X solamente. En el grupo II se incluyen aislamientos que poseen sustituciones en PBP2X o PBP1A solamente, el grupo III incluye a aquellos que poseen sustituciones en PBP2X y PBP2B y el grupo IV, sustituciones en PBP2X, PBP2A y 1A pero no en PBP1B o 2B. Las sustituciones que se reporten en el futuro se incluirán en los grupos V, VI, etc.

De acuerdo a esta clasificación, los autores proponen que para definir a un aislamiento de EGB con sensibilidad disminuida a la penicilina se debe realizar de ahora en más, la secuenciación de los genes de las PBP y según la sustitución aminoacídica encontrada, asignarlo como perteneciente uno de los 4 grupos.

Since 2008 *Streptococcus agalactiae* (GBS) with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) have been isolated mainly in Japan, Canada and in the United States. Penicillin MICs for PRGBS are between 0.25 and 1 mg/L. These MICs are due to the acquisition of amino acid substitutions near the conserved active-site motifs in PBP2X. In particular, V405A and Q557E are considered the key amino acid substitutions responsible for penicillin non-susceptibility. In addition to the substitutions in PBP2X, an amino acid substitution in PBP1A confers high-level cephalosporin resistance in GBS. Also penicillin-susceptible, but ceftibuten-resistant GBS isolates with amino acid substitutions in PBP2X, were reported. So, authors recommend performing sequence analysis of the PBP genes for all β -lactam-nonsusceptible clinical isolates of GBS in addition to MIC determinations. Therefore, they propose a classification scheme for which the sequence data of the PBP genes were available. They classified GBS-RBS into classes I – IV based on the distinct PBPs that harbor amino acid substitutions. Class I contains critical amino acid substitutions in PBP2X only. Class II included isolates with substitutions in PBP2X or PBP1A, class III included isolates with substitutions in PBP2X and PBP2B, class IV substitutions in PBP2X, PBP2A and 1A but not in PBP1B or 2B. Other substitutions will be included in class V, Vi, etc.

Finally, the authors concluded that according to this classification, for defining an isolate with reduced penicillin susceptibility it is suggested to perform the sequencing of PBP gene in order to detect aminoacids substitutions and assign an isolated to belong for one of these groups.

Genetic basis of the association of resistance genes *mef(I)* (macrolides) and *catQ* (chloramphenicol) in streptococci.

Mingoia M^{1*}, Morici E¹, Brenciani A¹, Giovanetti E² and Varaldo PE¹.

¹Unit of Microbiology, Department of Biomedical Sciences and Public Health, School of Medicine, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy

²Unit of Microbiology, Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy

e-mail: m.mingoia@univpm.it

Frontiers in Microbiology 2015; 5:1–5

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

December 2015

Diciembre 2015

Vol 1, N°2

En los estreptococos, los genes *mef* codifican para resistencia a macrólidos mediada por eflujo. Los genes *mef* suelen producir resistencia de bajo nivel, que sólo afecta a los macrólidos de 14 y 15 miembros, en comparación con los genes *erm* que codifican para metilasa por modificación del sitio blanco y ocasionan alto nivel de resistencia. En los estreptococos, los genes *mef* incluyen una serie de subclases, de los cuales las más importantes son *mef* (A) y *mef* (E). El determinante de resistencia a macrólidos *mef* (I) y el de resistencia a cloranfenicol *catQ*, relativamente poco comunes, se encuentran típicamente unidos en un módulo genético llamado módulo IQ, el cual no se ha reportado fuera del género *Streptococcus*. El módulo IQ fue descrito en *S. pneumoniae*, pero posteriormente se ha detectado en *S. pyogenes* y diferentes especies de estreptococos del grupo viridians, que tiene *mef* (E) en lugar de *mef* (I). El módulo IQ es un fragmento conservado de ADN de ~5.8-kb que abarca desde *mef* (I) (o *mef* (E) en VGS) hasta *catQ*. Recientemente se ha estudiado la localización del módulo IQ en tres aislamientos: uno de la especie *S. pneumoniae* y dos de *S. pyogenes*. En los tres casos el módulo IQ se encontró inserto en un elemento de la familia del Tn5253 capaz de conjugarse e integrarse (ICE) y fueron designados ICESpn529IQ, ICESpy029IQ, y ICESpy005IQ, respectivamente. Comparando su organización genética se obtuvo gran cantidad de información sobre su integración al cromosoma y transferibilidad. El origen del módulo IQ es desconocido y se discute el mecanismo por el que se propaga en los estreptococos.

In streptococci, *mef* genes efflux-mediated macrolide resistance. Compared to *erm* genes encoding methylase-mediated target site modification which cause high level resistance, *mef* genes usually produce lower-level resistance, only affecting 14- and 15- membered macrolides. In streptococci, *mef* genes include a number of subclasses, of which *mef* (A) and *mef* (E) are the most important. The macrolide resistance determinant *mef* (I) and the chloramphenicol resistance *catQ*, both relatively uncommon within the respective class of resistance genes, are typically linked in a genetic module named IQ module, which has not been reported outside the genus *Streptococcus*. The IQ module was described in *S. pneumoniae* but IQ-like modules have subsequently been detected in *S. pyogenes* and in different species of viridians group streptococci, where *mef* (E) may be found instead of *mef* (I). The IQ module is a conserved ~5.8-kb DNA fragment spanning from *mef* (I) (or *mef* (E) in VGS) to *catQ*. The genetic location of the IQ module has recently been investigated in three strains: one *S. pneumoniae* and two *S. pyogenes*. All three IQ modules were found to be inserted in Tn5253 family ICEs, which were respectively designated ICESpn529IQ, ICESpy029IQ, and ICESpy005IQ. Despite variability

upstream of the *mef* gene and downstream of *catQ*, all reported IQ modules appear to share a conserved *mef-catQ* fragment. A lot of new information has been obtained by comparing their genetic organization, chromosomal integration, and transferability. The origin of the IQ module is unknown and the mechanism by which it spreads in streptococci is discussed.

Viridans group streptococci clinical isolates: MALDI-TOF mass spectrometry versus gene sequence-based identification

Silvia Angeletti^{1*}, Giordano Dicuonzo¹, Alessandra Avola¹, Francesca Crea¹, Etleva Dedej¹, Francesca Vailati², Claudio Farina², Lucia De Florio¹

¹Clinical Pathology and Microbiology Laboratory, University Hospital Campus Bio-Medico of Rome, Rome, Italy, ²Microbiology Institute, AO 'Papa Giovanni XXIII' (formerly AO 'Ospedali Riuniti') of Bergamo, Bergamo, Italy

e-mail: s.angeletti@unicampus.it

PLoS One. 2015 Mar 17;10(3):e0120502. doi: 10.1371/journal.pone.0120502. eCollection 2015

Varios métodos moleculares , incluyendo *Matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) han sido utilizados para la identificación de los estreptococos del grupo viridans (EGV), pero ellos suelen fallar cuando se quiere identificar a los del grupo *S. mitis* (incluyendo *S. pneumoniae*). En este estudio, se comparó la *performance* de dos equipos de espectrometría de masas, el Biotyper (Bruker) y el VITEK MS (bioMérieux) con la secuenciación de los genes *tuf*, *sodA* y *rpoB*. Este último resultó ser el mejor método para discriminar entre *S. pneumoniae* y los estreptococos del grupo *S. mitis* y se lo consideró como el método de referencia. La sensibilidad y especificidad del VITEK MS en la identificación de *S. pneumoniae* fue del 100% y el Biotyper fue menos específico (92,4%).

En cepas de EGV (no neumococos), la correlación a nivel de grupo entre *rpoB* y las dos técnicas de espectrometría de masas fue del 100%, mientras que a nivel de especie fue del 61% para el Biotyper y del 36% para el VITEK MS. Estos números podrían aumentar si se considerara a *S. mitis* y *S. oralis* en conjunto. Los datos de este estudio demostraron que la técnica de MALDI-TOF puede ser un método rápido y de bajo costo para la identificación de EGV aún dentro del grupo *S. mitis*. No obstante, en este punto se requerirán mejoras en la base de datos de los espectros.

Several molecular methods, including *Matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) have been used for Viridans Group Streptococci (VGS) identification but they often failed in discriminate within the Mitis group (including *S. pneumoniae*). In this study, the performance of two MS instruments, the Biotyper (Bruker) and the VITEK MS (bioMérieux) have been compared to those derived from *tuf*, *sodA* and *rpoB* genes sequencing. *rpoB* gene sequencing resulted the best method for discriminating between *S. pneumoniae* and Mitis group VGS and was used as reference method. The sensitivity and the specificity of the VITEK MS in *S. pneumoniae* identification were 100%, while the Biotyper resulted less specific (92.4%).

In non pneumococcal VGS strains, the group-level correlation between *rpoB* and both MS techniques (Biotyper and VITEK MS) was 100%, while the species-level correlation was 61% and 36% respectively but it may increase if isolates identified as *S. mitis* / *S. oralis* are included. Data from this study demonstrated that MALDI-TOF technique can represent a rapid and cost saving method for VGS identification, even within the Mitis group, but improvements of spectra database are still recommended.

Increased cytotoxicity and streptolysin O activity in group G streptococcal strains causing invasive tissue infections

Nikolai Siemens¹, Bård R. Kittang^{2,3}, Bhavya Chakrakodi¹, Oddvar Oppegaard⁴, Linda Johansson¹, Trond Bruun^{3,4}, Haima Mylvaganam⁵, INFECT Study Group[†], Mattias Svensson¹, Steiner Skrede^{3,4}, Anna Norrby-Teglund¹

¹Center for Infectious Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. ²Haralds plass Deaconess Hospital, Bergen, Norway. ³Department of Clinical Science, University of Bergen, Bergen, Norway. ⁴Department of Medicine, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway. ⁵Department of Microbiology, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway.

email: anna.norrby-teglund@ki.se

Scientific Reports | 5:16945 | DOI: 10.1038/srep16945

Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis (SDSE) ha emergido como una causa importante de infecciones de piel y tejidos blandos, pero poco se conoce acerca de los mecanismos patogénicos involucrados. Se analizaron 69 aislamientos invasivos y no invasivos de

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

December 2015

Diciembre 2015

Vol 1, N°2

estreptococos del grupo G de igual número de pacientes para determinar la expresión de factores de virulencia y los efectos citotóxicos o los efectos inflamatorios sobre células humanas y modelos tridimensionales de piel. Las cepas de SDSE infectaron eficientemente la piel en el modelo tridimensional y se detectaron respuestas inflamatorias y producción alterada de proteínas estructurales del hospedador con integridad de la barrera epitelial. Las cepas invasivas fueron significativamente más tóxicas para los queratinocitos y expresaron mayores niveles de estreptoquinasa y estreptolisina O (SLO) que las cepas no invasivas. Lo opuesto sucedió con la estreptolisina S. El fraccionamiento y el análisis proteómico de las fracciones citotóxicas señalaron a la SLO como un factor que contribuye probablemente a la citotoxicidad sobre los queratinocitos y a la patología tisular. Los análisis de las biopsias de tejidos de los pacientes revelaron una carga bacteriana masiva, una elevada expresión de la SLO, una infiltración de células implicadas en la inmunidad y presencia de marcadores proinflamatorios. Los resultados obtenidos sugieren la contribución de la SLO a la citotoxicidad epitelial y a la patología tisular en infecciones de tejidos blandos por SDSE.

Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis (SDSE) has emerged as an important cause of severe skin and soft tissue infections, but little is known of the involved pathogenic mechanisms. Sixty nine invasive and non-invasive group G SDSE strains were analyzed with respect to virulence factor expression and cytotoxic or inflammatory effects on human cells and 3D skin tissue models. SDSE strains efficiently infected the 3D-skin model and severe tissue pathology, inflammatory responses and altered production of host structural framework proteins associated with epithelial barrier integrity were evident already at 8 hours postinfection.

Invasive strains were significantly more cytotoxic towards keratinocytes and expressed higher Streptokinase and Streptolysin O (SLO) activities, as compared to non-invasive strains. The opposite was true for Streptolysin S (SLS). Fractionation and proteomic analysis of the cytotoxic fractions implicated SLO as a factor likely contributing to the keratinocyte cytotoxicity and tissue pathology. Analyses of patient tissue biopsies revealed massive bacterial load, high expression of SLO, as well as immune cell infiltration and pro-inflammatory markers. These results suggest the contribution of SLO to epithelial cytotoxicity and tissue pathology in SDSE tissue infections.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

December 2015

Diciembre 2015

Vol 1, N°2

We are reproducing here the letter sent by organizers of the next Lancefield Symposium:

SAVE THE DATE

"We are proud to announce that the 20th Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases will be held in Fiji from the 16th to 20th October 2017.

The 20th LISSSD will continue the tradition of linking laboratory excellence with high quality clinical and epidemiologic studies of streptococcal infections, but will bring a fresh and forward-looking approach with a focus on cutting-edge science, and on streptococcal disease in endemic regions. The 20th LISSSD will be held in the stunning location of the Sofitel Hotel on Denarau Island on the west coast of Fiji, providing a beautiful and relaxing setting to discuss research ideas and collaboration, and providing easy access to some of the most picturesque islands in the world.

Please visit the conference website to register your interest and be kept up-to-date with conference arrangements as they unfold.

We very much look forward to your participation in the 20th LISSSD in Fiji.

20th LISSSD Co-Chairs

Associate Professor Joseph Kado & Associate Professor Andrew Steer

20th LISSSD Vice Co-Chairs

Professor Mark Walker and Professor Pierre Smeesters

On behalf of the Organising and Scientific Committees"

