

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

Editor Committee: STREP group of 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 3, N°3

Septiembre 2017

Cross-resistance to lincosamides, streptogramins A and pleuromutilins in *Streptococcus agalactiae* isolates from the USA.

Paulina A. Hawkins^{1,2}, Caitlin S. Law², Benjamin J. Metcalf², Sopia Chochua², Delois M. Jackson², Lars F. Westblade³, Robert Jerris⁴, Bernard W. Beall² and Lesley McGee²

1. Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, GA, USA.

2. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA.

3. Weill Cornell Medical College, New York, NY, USA.

4. Children's Healthcare of Atlanta, Atlanta, GA, USA.

*Corresponding author. E-mail: lmcgee@cdc.gov

J Antimicrob Chemother. 2017. doi:10.1093/jac/dkx077

Resistance only to lincosamides (L phenotype) in *Streptococcus agalactiae* (GBS) is still scarce but it has been described recently in Canada, USA, Spain, Argentina, Korea and South Africa. This resistance was also detected in *E. faecium*, *S. uberis*, *S. lutetiensis* and *S. aureus*. The mechanism involved is the antibiotic modification by a lincosamide nucleotidil-transferase codified by the *Inu(B)* gene. Resistance to lincosamides was also reported in combination with resistance to streptogramin A and pleuromutilins, (LSA and LSAP phenotypes respectively) due to the expression of *Isa* gene variants by a mechanism that is not known.

From a collection of 21,186 GBS isolates recovered between 1998 and 2015, authors screened the presence of L, LSA and LSAP phenotypes and performed whole genome sequence for finding genetics determinants that confer this resistance. They found that the resistance increased in the last period of study, and that the overall resistance to clindamycin was 0.31 % (n=65 isolates). Also, the presence of the genes related to this resistance was evaluated and 75% were assigned to *Isa(C)* with LSAP phenotype, 18% carried *Inu(B)* and *Isa(E)* genes and were LSAP phenotype. The rest of the isolates were negative for all determinants investigated and are under study. *Inu(B)* and *Isa(E)* genes are carried in a 75.5 kb mobile element containing genes that were previously described in GBS and *S. suis*. This element was integrated in the chromosome in the same site where *vanG* element was integrated in other GBS. Isolates that have *Isa(C)* were located in a Tn916-like element.

The presence of genes that confer resistance to streptogramin A in conjunction to *erm* genes could diminished the effect of the use in some countries of quinupristin-dalfopristin drug combination. It is an important fact as it is used in the treatment of complicated skin infections caused by *S. aureus* and *S. pyogenes*. The authors addressed the importance of limiting the use of pleuromutilins in agriculture due to the resistance observed in isolates that became from humans.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

La resistencia a lincosamidas (fenotipo L) es aún poco frecuente. Fue descrita en aislamientos de *Streptococcus agalactiae* (GBS) provenientes de Canadá, EE.UU., España, Argentina, Corea y África. Además fue reportada en *E. faecium*, *S. uberis*, *S. lutetiensis* y *S. aureus*. El mecanismo de resistencia involucra la modificación del antibiótico por una lincosamida nucleotidil-transferasa, que es codificada por el gen *Inu(B)*. Cuando la resistencia a lincosamidas se detecta en presencia de resistencia a estreptograminas A y pleuromutilinas, el fenotipo se denomina LSA o LSAP, debido a la expresión de las variantes del gen *Isa* por un mecanismo que a la fecha no está dilucidado.

A partir de una colección de 21.186 aislamientos de GBS que se recuperaron en el período 1998-2015, los autores realizaron la búsqueda de la presencia de los fenotipos L, LSA y LSAP. Además realizaron la secuenciación del genoma completo en aquellos aislamientos que presentaban cualquiera de esos tres fenotipos con el objetivo de encontrar los determinantes de resistencia. La resistencia a clindamicina aumentó en el último período de estudio. La resistencia global a clindamicina fue de 0,31 % (n=65). Además el 75% de los aislamientos presentaron el gen *Isa(C)* y el fenotipo LSAP, el 18% los genes *Inu(B)* y *Isa(E)* y el mismo fenotipo. El resto de los aislamientos fueron negativos para los determinantes de resistencia y aún continúan en estudio. Los aislamientos que poseen *Inu(B)* y *Isa(E)* contienen los determinantes de resistencia localizados en un elemento móvil de 75,5 kb, que es similar al que se describió previamente en GBS y *S. suis*. Este elemento se encuentra integrado en el cromosoma en el mismo sitio en el que se insertó el elemento *vanG* en otros GBS. Los aislamientos que poseen *Isa(C)*, están insertos dentro de un transposón Tn916-like.

El hecho de que los genes que confieren resistencia a estreptograminas A en conjunto con *erm* podrían disminuir el efecto del uso de la combinación quinupristina-dalfopristina es relevante ya que este antibiótico es utilizado en algunos países en infecciones de piel complicadas causadas por *S. aureus* y *S. pyogenes*. Los autores refuerzan la importancia de limitar el uso de las pleuromutilinas en agricultura debido a la presencia de resistencia observada en los aislamientos de origen humano.

Characterization of *Streptococcus pneumoniae* invasive serotype 19A isolates from Argentina (1993-2014).

Gagetti Paula¹, Faccione Diego¹, Reijtman Vanesa^{1,2}, Fossati Sofia², Rodriguez Marisa¹, Veliz Omar², Ceriana, Paola¹, Regueira Mabel², SIREVA II Group[†], Corso Alejandra¹.

1. Servicio Antimicrobianos, National Reference Laboratory (NRL), Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI)-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

2. Servicio Bacteriología Clínica, National Reference Laboratory (NRL), Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI)-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

[†]Members of the SIREVA II Group are listed in Acknowledgments.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

Vaccine. 2017, 35: 4548-4553.

Streptococcus pneumoniae is an important bacterial pathogen to cause invasive pneumococcal diseases in children, including bacteremia and meningitis. Since 1993, the National IPD Surveillance Program has been conducted in Argentina in less than 6 years old children, as part of SIREVA II-PAHO network. The main objectives of this network are to identify the prevalence of *S. pneumoniae* serotypes, to determine their antibiotic resistance profile and to evaluate the spread of high risk clones.

The aim of this study was to characterize *S. pneumoniae* serotype 19A isolates causing invasive pneumococcal disease in children, collected in Argentina between 1993 and 2014. A total of 176 isolates serotype 19A were analysed. There was an increase in the proportion of serotype 19A isolates from 3% in 1993 to 6% in 2011, prior to the introduction of PCV13 in 2012, and from 2012 to 2014 its proportion gradually decreased.

Penicillin resistance among serotype 19A isolates throughout the study period was 65.9%, but a significant increase was observed from 0% in 1993 to 87.5% in 2014. Genetic relationship of the isolates was determined by PFGE and selected strains were studied by MLST.

Most of the isolates belonged to two clonal types: A (54.5%) and B (11.4%). Isolates of clonal type A were ST1131, a single locus variant of ST172 and accounted for 54% of the total collection. They were detected for the first time in our country in 1997 and most of them (93%) were penicillin non susceptible. Isolates of clonal type B were ST8121, a single locus variant of ST199, and were mainly susceptible to penicillin. These two clonal types are still in circulation and appear to be responsible for the dissemination of *S. pneumoniae* serotype 19A invasive isolates in our country.

Caracterización de aislamientos invasivos de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 19A de Argentina (1993-2014).

Streptococcus pneumoniae es un importante agente causal de enfermedad neumocócica invasiva en niños, incluyendo bacteriemia y meningitis. Argentina forma parte desde 1993 del Programa Nacional de Vigilancia de Enfermedad Neumocócica invasiva en niños menores de 6 años, como parte de la red SIREVA II-OPS. Los principales objetivos de esta red son identificar la prevalencia de serotipos de *S. pneumoniae*, determinar su perfil de resistencia a los antibióticos y estudiar la diseminación de los clones circulantes.

El objetivo de este estudio fue caracterizar los aislamientos de *S. pneumoniae* serotipo 19A causantes de enfermedad neumocócica invasiva en niños, recuperados en Argentina entre 1993 y 2014. Se analizaron 176 aislamientos de serotipo 19^a. Se observó un aumento en la proporción de este serotipo de 3% en 1993 a 6% en 2011, antes de la introducción de la PCV13 en 2012, y una disminución gradual entre 2012 y 2014.

La resistencia a penicilina de los aislamientos a lo largo del período de estudio fue del 65,9%, y se observó un aumento significativo de 0% en 1993 a 87,5% en 2014. La relación genética de los aislamientos se determinó por PFGE y una selección de cepas fue estudiada por MLST.

La mayoría de los aislamientos pertenecieron a dos tipos clonales: A (54,5%) y B (11,4%). Los aislamientos del tipo clonal A fueron ST1131, una variante de locus único (*single locus variant*)

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

del ST172 y representaron el 54% del total. Estos aislamientos fueron detectados por primera vez en nuestro país en 1997 y la mayoría de ellos (93%) no presentaron sensibilidad a la penicilina. Los aislamientos del tipo clonal B fueron ST8121, una variante de locus único del ST199, y fueron principalmente sensibles a penicilina. Estos dos tipos clonales siguen en circulación y parecen ser los responsables de la diseminación de *S. pneumoniae* serotipo 19 A causantes de enfermedad invasiva en nuestro país.

Emergence of vanA *Enterococcus faecium* in Denmark, 2005–15.

Anette M. Hammerum^{1*}, Sharmin Baig¹, Yasmin Kamel¹, Louise Roer¹, Mette Pinholt², Heidi Gumpert², Barbara Holzknicht³, Bent Røder⁴, Ulrik S. Justesen⁵, Jurgita Samulioniene⁶, Mona Kjærsgaard⁷, Claus Østergaard⁸, Anette Holm⁹, Esad Dzajic¹⁰, Turid Snekløth Søndergaard¹¹, Shahin Gaini^{12–14}, Petra Edquist¹⁵, Erik Alm¹⁵, Berit Lilje¹, Henrik Westh², Marc Stegger¹ and Henrik Hasman¹

1. Department of Bacteria, Parasites and Fungi, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark.
2. Department of Clinical Microbiology, Hvidovre University Hospital, Hvidovre, Denmark.
3. Department of Clinical Microbiology, Herlev University Hospital, Herlev, Denmark.
4. Department of Clinical Microbiology, Slagelse Hospital, Slagelse, Denmark.
5. Department of Clinical Microbiology, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark.
6. Department of Clinical Microbiology, Aalborg University Hospital, Aalborg, Denmark.
7. Department of Clinical Microbiology, Aarhus University Hospital, Aarhus, Denmark.
8. Department of Clinical Microbiology, Lillebaelt Hospital, Vejle, Denmark.
9. Department of Clinical Microbiology, Odense University Hospital, Odense, Denmark.
10. Department of Clinical Microbiology, Hospital South West Jutland, Esbjerg, Denmark.
11. Department of Clinical Microbiology, Viborg Regional Hospital, Viborg, Denmark.
12. Medical Department, National Hospital Faroe Islands, Torshavn, Faroe Islands.
13. Department of Infectious Diseases, Odense University Hospital, Odense, Denmark.
14. Department of Science and Technology, University of the Faroe Islands, Torshavn, Faroe Islands.
15. Public Health Agency of Sweden, Stockholm, Sweden.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

*Corresponding author: ama@ssi.dk

J Antimicrob Chemother 2017. doi:10.1093/jac/dkx138

Enterococcus faecalis and *Enterococcus faecium* can cause community-acquired and nosocomial infections. Clinical isolates of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) are of great importance. In this sense, it has been observed an increase during the last decades in the occurrence of vancomycin resistance in Europe, being *E. faecium* the most frequent species. Resistance to vancomycin can be encoded by several gene clusters (*vanA* / *B* / *D* / *E* / *G* / *L* / *M* / *N*). In Europe, *vanA* is the most prevalent genotype, followed to a lesser extent by *vanB*.

For the study of clonal relationships, MLST has been the gold standard. In addition, the whole-genome sequence (WGS) can be used for epidemiological studies and to compare population structures of *E. faecium*. Recently, Been et al. developed a core-genome MLST (cgMLST) scheme for *E. faecium* based on 1423 target genes. The aim of the study was to describe the occurrence of the *vanA* and *vanB* gene clusters among clinical *E. faecium* and *E. faecalis* in Denmark from 2005 to 2015. They also applied MLST and cgMLST to infer the genetic relatedness of *E. faecium* in order to understand the huge increase in *vanA E. faecium* in Denmark. From 2005 to 2015, the Danish Departments of Clinical Microbiology (DCM) have derived VREs from blood, tissue and urine to the Antimicrobial Resistance Reference Laboratory at Statens Serum Institut (SSI). During 2005–14, all clinical VRE isolates (699 *E. faecium* and 30 *E. faecalis*) were tested for the presence of *vanA/B/C* genes by PCR. In 2015, the complete genome of 371 clinical isolates of VRE (369 *E. faecium* and 2 *E. faecalis*) were full sequenced. It was observed that up to 2012, the number of VRE isolated from clinical samples was 50 / year, and increased from 2013 to 2015, to 200 per year. During 2005–09, a small outbreak of ST203 *vanB E. faecium* and two ST18 *vanA E. faecium* outbreaks were detected in the Capital Region.

From 2009 to 2013, the increase in VRE was due to the spread of multiple hospital outbreaks, including *vanA E. faecium* isolates belonging to ST18, ST117, ST192, ST203 and ST260. Among VRE isolated in the year 2015, both of the *E. faecalis* isolates belonged to ST6, one was *vanA* and the other *vanB* positive. Of the *E. faecium* isolates, 368 were *vanA* positive and 1 carried the *vanB* gene. The vast majority of *E. faecium* isolates belonged to three STs; ST203 (51%), ST80 (33%) and ST117 (10%). In total, 187 (99%) of the 188 ST203 *E. faecium* isolates belonged to a new cluster types (CT), which was designated CT859. During 2015, ST203-CT859 *vanA E. faecium* were also detected from the Faroe Islands and from the southern part of Sweden. The presence was most likely due to patient transfer, as patients with ST203-CT859 *vanA E. faecium* had been transferred from hospitals in the Capital Region to the Faroe Islands and to Sweden on multiple occasions.

In conclusion, during the 2005-15 period, VRE increased dramatically in Denmark due to the appearance of several *E. faecium vanA* clones. In 2015, a new type emerged, ST203-CT859, which spread across Danish borders. Studies are underway to investigate the cause of the dissemination capacity of *E. faecium* ST203-CT85.

LANCEFIELD STREPTOCOCCAL NEWSLETTER

Vol 3, N°3

Septiembre 2017

Emergencia de *Enterococcus faecium vanA* en Dinamarca, 2005-15

Enterococcus faecalis y *Enterococcus faecium* pueden causar infecciones adquiridas en la comunidad y nosocomiales. Es preocupante el aumento de Enterococos Resistentes a Vancomicina (EVR) en Europa en las últimas décadas, en especial el de *E. faecium*, que es la especie más frecuente. La resistencia a vancomicina puede ser codificada por varios genes (*vanA* / *B* / *D* / *E* / *G* / *L* / *M* / *N*). En Europa, el genotipo *vanA* es el más prevalente, seguido en menor medida, por el genotipo *vanB*.

Para el estudio de relaciones clonales, el MLST ha sido la técnica de referencia. Además, la secuenciación completa del genoma (WGS) puede utilizarse para estudios epidemiológicos y comparar estructuras poblacionales de *E. faecium*. Recientemente Been et al. desarrollaron un *Core-genoma* MLST (cgMLST) para *E. faecium* basado en 1423 genes diana. El objetivo del presente estudio fue describir la ocurrencia de los genes *vanA* y *vanB* entre los aislamientos clínicos de *E. faecium* y *E. faecalis* en Dinamarca en el período de 2005 a 2015. Además, aplicaron MLST y CgMLST para poder inferir la relación genética de *E. faecium* y así poder entender el enorme aumento de *vanA* detectado en *E. faecium* en Dinamarca.

Para ello, desde 2005 y hasta el 2015, los Departamentos Daneses de Microbiología Clínica (DCM) han derivado al Laboratorio de Referencia de Resistencia a los Antimicrobianos del Statens Serum Institut (SSI) los EVR aislados de sangre, tejido y orina. De 2005 a 2014, todos los EVR (699 *E. faecium* y 30 *E. faecalis*) fueron analizados para detectar la presencia de los determinantes de resistencia a la vancomicina, genes *vanA* / *B* / *C*. En 2015, en 371 aislamientos clínicos de EVR (369 *E. faecium* y 2 *E. faecalis*) se secuenció el genoma completo. Hasta el año 2012, el número de EVR aislados de muestras clínicas fue de 50 por año, y aumentó en el período 2013 a 2015, a 200 por año. Durante 2005-09, un pequeño brote de *E. faecium vanB* ST203 y dos brotes de *E. faecium* ST18 se detectaron en la Región de la Capital.

De 2009 a 2013, el aumento de EVR se debió a la propagación de múltiples brotes hospitalarios, incluyendo aislados de *E. faecium vanA* pertenecientes a ST18, ST117, ST192, ST203 y ST260. Por su parte entre los EVR aislados en el año 2015, los dos *E. faecalis* pertenecieron a ST6, uno fue *vanA* y el otro *vanB* positivo. De los aislados de *E. faecium*, 368 fueron *vanA* positivo y 1 portaba el gen *vanB*. La gran mayoría de los aislados de *E. faecium* pertenecían a tres STs; ST203 (51%), ST80 (33%) y ST117 (10%). En total, 187 (99%) de los 188 *E. faecium* ST203 pertenecieron a un nuevo tipo de cluster (CT), que fue designado como CT859. Durante 2015, *E. faecium vanA* ST203-CT859 también fueron detectados en las Islas Feroe y en la región meridional de Suecia. La presencia fue muy probablemente debido al traslado de pacientes, ya que los pacientes en los cuales se detectó *E. faecium, vanA* y ST203-CT859 habían sido transferidos de hospitales de la Región de la Capital a las Islas Feroe y a Suecia en múltiples ocasiones.

En conclusión, durante el período 2005-15, los EVR aumentaron dramáticamente en Dinamarca debido a la aparición de varios clones de *E. faecium* y presencia del gen *vanA*. En 2015, surgió un nuevo tipo, ST203-CT859, que se extendió a través de las fronteras danesas. Los autores están llevando a cabo estudios que investigan la causa de la capacidad de diseminación de *E. faecium* ST203-CT859.