

## Begründungspapier zur Einstufung von *Streptococcus salivarius* in Risikogruppe 2 mit der Kennzeichnung „TA“ nach Biostoffverordnung

### Allgemeine Angaben

Name (Synonym): *Streptococcus salivarius* Andrewes and Horder 1906 [2];

Formale Erstbeschreibung: Die Art *Streptococcus salivarius* wurde erstmals 1906, Andrewes FW & Horder TJ. A study of the streptococci pathogenic for man. *Lancet*, 1906, **2**, 708-713, und 1980 mit validem Namen beschrieben; Skerman VBD, McGowan V, and Sneath PHA (editors): Approved Lists of Bacterial Names. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1980, **30**, 225-420. Y5

Etymologie: L. masc. adj. salivarius, slimy.

### Taxonomische Anmerkungen:

Basierend auf einer extensiven taxonomischen Revision der Gattung *Streptococcus* [18; 67] wurde die Gattung in „Spezies-Gruppen“ eingeteilt. *Streptococcus salivarius* gehört zu der Viridans Gruppe, die basierend auf phänotypischer Differenzierung in fünf Hauptgruppen eingeteilt wurde [31; 87]. Hierbei wurde *S. salivarius* über 16S rRNA Gen-Sequenzanalyse der „Spezies-Gruppe“ Salivarius zugeteilt. Zu dieser gehören neben *S. salivarius*, *Streptococcus vestibularis* (ebenfalls isoliert aus der menschlichen Mundhöhle [86]) und *Streptococcus thermophilus* (isoliert aus Milchprodukten [87]). Die drei Arten zeigen untereinander eine relativ hohe genotypische und phänotypische Ähnlichkeit, hohe DNA-DNA-Reassoziationswerte und einen hohen Gehalt an (Z)-11-Eicosensäure C<sub>20:1</sub> ( $\omega$ -9) (11-17%) [87].

Basierend auf diesen Untersuchungen wurde *S. thermophilus* zunächst zu einer Unterart von *S. salivarius*, *S. salivarius* subsp. *thermophilus* reklassifiziert [32, 1984; *Validation List* no. 15 [76]]. Mit der Publikation der Unterart *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Orla-Jensen 1919 [54], Farrow & Collins 1984 [32]) und der Validierung dieses Namens wurde die ursprüngliche Art *Streptococcus salivarius* automatisch zu *Streptococcus salivarius* subsp. *salivarius* (Andrewes & Horder 1906 [2; 23]) umbenannt [Rule 40d (vorher Rule 46); 40]. Schleifer et al. [66] schlug basierend auf klaren Unterschieden bei stringent durchgeführten DNA-DNA-Hybridisierungsexperimenten die Reklassifizierung der Unterart *thermophilus* als distinkte eigenständige Art vor (Schleifer KH, Ehrmann M, Krusch U, und Neve H. Revival of the species *Streptococcus thermophilus* (ex Orla-Jensen, 1919 [54]) nom. rev. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1991, **14**, 386-388 [66]; Validierungsliste Nr. 54. [77]. *Streptococcus vestibularis* wurde seit seiner Identifikation mit Infektionen in Zusammenhang gebracht [30]; *S. thermophilus* gilt als nicht pathogene Art [23].

Pathovarietäten: keine bekannt.

Risikogruppe: *Streptococcus salivarius* ( $\rightarrow$  *S. salivarius* subsp. *salivarius*) RG 2 mit der Kennzeichnung „TA“ (TRBA 466).

Begründung: Die mit *S. salivarius* in Verbindung gebrachten Infektionskrankheiten (auch bei Personen mit nicht beeinträchtigtem Immunstatus) sind vor allem **Meningitiden** [13; 69; 70; 81; 89 mit Literaturübersicht von 64 Fallberichten] und **Bakteriämien** [20; 45; 89]. Es gibt eine Vielzahl von Fallberichten, die *S. salivarius* mit weiteren Infektionserkrankungen in Verbindung gebracht haben, u.a. Infektionen von Augen [36], Knochen [10] und dem Abdomen [60]. Infektionen haben des Weiteren zu Sepsis (Blutvergiftung) unter anderem bei Patienten mit Neutropenie [3; 14; 38; 84], Perikarditis (Herzbeutelentzündung) [58], und

Endokarditis [45] geführt. Es sind jedoch Stämme beschrieben, die als Probiotika eingesetzt werden (K12 und M18) und nachweislich keine Krankheiten verursachen [91-96]. Aus diesen Gründen erfolgt die Kennzeichnung „TA“ gemäß TRBA 466 (TA: Arten, von denen Stämme bekannt sind, die langjährig sicher in der technischen Anwendung gehandhabt wurden. Diese bewährten Stämme können daher nach den Einstufungskriterien in die Risikogruppe 1 fallen).

Typstamm: ATCC 7073 = CCUG 11878 = CCUG 17825 = CCUG 50207 = CIP 102503 = DSM 20560 = HAMBI 1716 = JCM 5707 = LMG 11489 = NCIMB 701779 (vorher NCFB 1779) = NCTC 8618.

Konsiliarlabor/Referenzlabor: NRZ für Streptokokken am Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Aachen, Pauwelsstraße 30, 52057 Aachen

### **Molekularbiologie, Morphologie und Physiologie**

#### Genom:

Delorme et al. [23] untersuchte 12 Genome von *S. salivarius* Isolaten; drei der Genome lagen als Vollsequenzen vor. Nach Angaben (03/2017) der Genomdatenbank von EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net/genome/>) sind derzeit 25 Qualitätskontrollierte *S. salivarius* Genomsequenzen verfügbar; bei fünf der Genome liegt eine Vollsequenz vor. Darunter auch das Typstammgenom *Streptococcus salivarius* NCTC 8618<sup>T</sup> (Acc. Nummer: CP009913).

Die Genome haben eine mittlere Größe von 2,24 Mb (2,05 bis 2,42 Mb) und einen mittleren G+C Gehalt von 39,8 mol% (39,1~40,2 mol%). Die mittlere Anzahl von annotierten CDSs liegt bei 2.023,7 (1.878,0~2.186,0) [23; <http://www.ezbiocloud.net/genome/>]. Die Anzahl der detektierten 16S rRNA Genkopien liegt bei 6 pro Genom (<http://www.ezbiocloud.net/genome/>). Basierend auf den Genomen die bei Delorme et al. [23] untersucht wurden bestand das Core Genom der *S. salivarius* Stämme aus 1350 orthologen Genen und einem hohen Anteil weiterer Genen (je bis zu 500) die von einzelnen Stämmen geteilt wurden. Die *S. salivarius* Genome zählen zu den größten *Streptococcus* Genomen [23].

Bei den zwei größten Genomen wurden jeweils ein Megaplasmid mit einer Größe von ungefähr 0,18 Mb detektiert [6; 23; 37; 42]. In den anderen *S. salivarius* Genomen wurden einzelne Genabschnitte nachgewiesen, die Regionen der Megaplasmiden entsprachen. Dies deutet darauf hin, dass auch diese Genome extrachromosomale DNA enthalten [23]. Die Megaplasmid enthielten jeweils Gen Cluster, die mit der positiven ökologischen Funktion der *S. salivarius* Stämme in Verbindung stehen, so z.B. die Bacteriocin Produktion zur Wachstumshemmung pathogener Bakterien und der Stabilisierung der oralen Mikrobiota [42; 82; 83]. Weitere Gene codieren für Oberflächenfimbrien, die zur Co-Aggregation mit anderen Mikroorganismen und zur Anheftung an die menschlichen Epithelzellen beitragen [12; 47]. Dieses genetische Potenzial ist nötig für die Interaktion der *S. salivarius*-Stämme in den entsprechenden ökologischen Nischen, wie Mundhöhle, Darm etc. (s.u.).

Die Genome der *S. salivarius*-Stämme enthalten des Weiteren viele Gene des Harnstoffmetabolismus und eine Vielzahl von Genen, die genetische, mobile Elemente kodieren, die zur Transposition dienen [23;59].

#### Zelluläre und kulturelle Morphologie:

Gram-positive Kokken (kugelförmig bis ovale Zellen) mit einem Durchmesser von 0,8 - 1,0 µm; typischerweise paarweise oder in Ketten variierender Länge. Nicht beweglich, nicht sporenbildend, Katalase negativ und fakultative anaerob [87].

*S. salivarius*-Stämme bilden auf Saccharosehaltigem Medium Polysaccharide. Abhängig von dem relativen Anteil der gebildeten Polysaccharide bilden die Stämme glatte bis raue Kolonien, die einen Durchmesser von ca. 0,5-1 mm aufweisen. Die meisten Stämme bilden auf Saccharosehaltigem Medium Fructan (Laevan). Dies führt zur Ausbildung großer mucoider Kolonien. Einige Stämme bilden auch nicht lösliches Glucan (Dextran) [87].

#### Physiologie:

Chemoorganoheterotroph mit fermentativem Stoffwechsel, Verwertung zahlreicher Kohlenhydrate mit und ohne Säurebildung (meist Milchsäure), ohne Gasbildung. Wächst auf geeigneten Medien leicht in der Anwesenheit von Sauerstoff. Mesophil, optimales Wachstum bei 37°C. Kann bei 45°C, nicht aber 10°C wachsen. Die Mehrheit der Stämme zeigt keine Hämolyse auf Blutagar. Alpha- und Betahämolyse wurde aber bei einigen Stämmen nachgewiesen [87].

Weitere physiologische Eigenschaften sind tabellarisch und in der Artbeschreibung in dem zusammenfassenden Artikel „*Streptococcus*“ in „*Bergey's Manual*“ zusammengetragen [87]. Angemerkt wurde dort, dass Angaben in der Literatur bzgl. positiv ausgeprägter Substratverwertungstests variierten.

#### Charakteristische diagnostische Merkmale:

Stämme der Art *S. salivarius* hydrolysieren Aesculin und Stärke, einige Stämme auch Harnstoff. Die Katalase-Bildung ist negativ. Arginin und Hippursäure werden nicht hydrolysiert. Die Mehrheit der Stämme bildet Acetoin (Voges-Proskauer Reaktion); Wasserstoffperoxide und IgA1 Protease werden nicht gebildet. [87]. Etwa 50 % der Stämme reagieren mit Antiseren der Lancefield Gruppe K [51; 87]. Zwei Arten von Peptidoglycan wurden nachgewiesen, Lys-Ala 2-3 und Lys-Thr-Gly [67]. Nahe Verwandtschaft (genotypische Charakteristik) zu *Streptococcus bovis* – synonym: *Streptococcus equinus*. Erschwerend bei der Diagnostik von *S. salivarius* sind die biochemische Heterogenität und phänotypisch nahe Verwandtschaft mit *S. bovis* (*S. equinus*) [22; 63]. Ohne genügende diagnostische Tiefe kann es zur Fehlidentifikation kommen [20]. *S. salivarius*-Antigene führen zu einer Kreuzreaktion mit Antiseren anderer *Streptococcus* spp., u.a. *S. pneumoniae* [27; 39 ; 69; 79].

#### **Natürlicher Standort und Wirtsbereich**

##### Wirtsbereich: Mensch

Dominierender Mikroorganismus in der Mundflora der Mundhöhle gesunder Menschen; zählt zu den Erst/Frühbesiedlern der Oberfläche der oralen Mucosa [44; 52; 56; 61; 86]. *S. salivarius* ist bei Säuglingen bereits wenige Stunden bis Tage nach der Geburt nachweisbar und bleibt bei Erwachsenen im Oropharyngaltrakt lebenslang nachweisbar [53; 73]. *S. salivarius* wurde im Mundspeichel nachgewiesen und ist Hauptkomponente des Biofilms der dorsalen Oberfläche der Zunge und des bukkalen Epithels (Mundhöhlenepithels) [41]. *S. salivarius* trägt in der Mundhöhle zum mikrobiellen Äquilibrium und damit zur oralen Gesundheit bei [11].

Nach Angaben bei Whiley & Hardie [87] wurden *S. salivarius*-Stämme auch aus der Mundhöhle von Tieren isoliert. Eine direkte Literaturquelle fehlte jedoch. Nach Angaben von Delorme et al. [23] sind dagegen keine eindeutig charakterisierten Stämme von Tieren isoliert worden.

Genom-sequenzierte und somit eindeutig als *S. salivarius* identifizierte Stämme wurden neben der Mundhöhle und der Mundschleimhaut, von Zahnbelag, dem oberen Atemtrakt, dem Dünndarm, der Haut, aus Blut und der Muttermilch isoliert [23]. Des Weiteren wurden *S. salivarius* Stämme auch aus Kotproben isoliert [16; 87]. Weitere Literaturnachweise für das Auftreten in verschiedenen Körperregionen (meist in Zusammenhang mit Infektionen) sind wie folgt, Haut [9; 21; 50; 90], Gastrointestinaltrakt [9; 19; 21; 50], Oropharynx [80; 90], Urogenitaltrakt [9; 19; 21] und Leber [43].

Mehrere Nachweise erfolgten aus Blutproben von Patienten mit unterschiedlichen *S. salivarius*-Infektionen, u.a. Endokarditis. Der kulturelle Nachweis gelang ebenfalls aus Abszessen von infizierten Organen z.B. Leber, Hirn [20; 43; 49; 63; 64; 65; 71].

Basierend auf der Vielzahl von Isolationsquellen auf und im menschlichen Körper wird davon ausgegangen dass sich *S. salivarius* an die unterschiedlichsten ökologischen Nischen des menschlichen Körpers anpassen und diese besiedeln kann.

## **Pathogenität**

### Pathogen für: Mensch

Obwohl *S. salivarius* für seine kompetitive antagonistische Wirkung bekannt ist und ein abundanter Besiedler der menschlichen Mundhöhle ist, kann *S. salivarius* zu Infektionen führen. Betroffen sind vor allem Personen mit Immunsuppression. So wurden Blutinfektionen mit *S. salivarius* vor allem bei Patienten mit onkologischen bzw. hämatologischen Erkrankungen und Neutropenie und dort stets im Zusammenhang mit die natürliche Barriere penetrierenden Fremdkörpern (i.v. Zugänge, spezielle Katheter z.B. in den Liquorraum, Drainagen) beschrieben [3; 14; 20; 38].

### Pathogenitätsfaktoren/Pathogenese:

Eine vergleichende Untersuchung der Genome der 12 *S. salivarius*-Stämme (drei Vollsequenzen) mit denen der anderen beiden Arten der *Salivarius*-Gruppe, *S. thermophilus* und *S. vestibularis*, zeigte, dass die Genome der *S. salivarius*-Stämme größer sind als die der nicht pathogenen Art *S. thermophilus* und eine große Anzahl von Genen besitzen, die für Oberflächenfaktoren, Glycosyltransferasen und „Response Regulatoren“ kodieren [23]. Glycosyltransferasen katalysieren die Bildung glycosidischer Bindungen zwischen Sacchariden. Diese werden zur Bildung verschiedener Substanzen wie Glykan, extrazellulärer Polysaccharide (EPS), Polyketide, Peptidoglycan, Glycoproteinen oder Glycolipiden benötigt. All dies sind Substanzen, die zur Fitness, Resistenz, Adhäsion, Invasion, Biofilm-Bildung, Kolonisation und Virulenz bei Streptokokken beitragen können (weiterführende Literaturangaben bei Delorme et al. [23]).

Bei einem ersten genomischen Vergleich des kommensalen Stammes JIM8777 [34] und einem voll-sequenzierten klinisch relevanten Blutisolates, Stamm CCHSS3 (GenBank Accession Nummer FR873481), wurde eine deutlich höhere Anzahl von Insertionssequenzen (56 im Vergleich zu 5) in dem klinisch-relevanten Stamm nachgewiesen. Dies zeigte sich auch bei der Untersuchung weiterer *S. salivarius*-Isolate [23; 55]. Es wurden jedoch keine spezifischen bekannten Virulenzfaktoren, Antibiotikaresistenzen oder putative genomische

Inseln im akzessorischen Genom des pathogenen Stammes gefunden [25]. Weitere Untersuchungen von *S. salivarius*-Genomen zeigten das Auftreten verschiedenster Antibiotikaresistenz-Gene [16; 53; 55]. Dies ist ausführlich in dem Kapitel Empfindlichkeitsprüfung (s.u.) dargestellt. Bei den weiterführenden Untersuchungen von 12 *S. salivarius*-Genomen wurden keine spezifischen Pathogenitätsfaktoren erwähnt [23].

Ausprägung der Pathogenität:

Fakultativ pathogen; prädisponierende Faktoren sind Immunsuppression wie schwere maligne Erkrankungen (Krebs) oder ein noch unvollständig ausgeprägtes Immunsystem (Neugeborene!).

Infektionsdosis: Nicht bekannt. Basierend auf den Annahmen, dass Infektionen über Tröpfcheninfektion natürlich in der Mundhöhle vorkommender Bakterien bzw. Kontamination natürlich auf der Haut vorkommender Bakterien ausgelöst werden können, besteht die Vermutung, dass die Infektionsdosis relativ gering ist.

Fruchtschädigende Wirkung: nicht bekannt.

Allergenität: nicht bekannt

Toxigenität: nicht bekannt

## Krankheit

Bezeichnung:

Die am häufigsten mit *S. salivarius* in Verbindung gebrachten Infektionskrankheiten sind **Meningitis** [13; 69; 70; 81; 89 mit Literaturzusammenstellung von 64 Fallberichten] und **Bakteriämie** [20; 45; 89]. Es gibt eine Vielzahl von Fallberichten, die *S. salivarius* mit weiteren Infektionserkrankungen in Verbindung gebracht haben, u.a. Infektionen von Augen [36], Knochen [10] und dem Abdomen [60]. Infektionen haben des Weiteren zu Sepsis (Blutvergiftung) unter anderem bei Patienten mit Neutropenie [3; 14; 38; 84], Perikarditis (Herzbeutelentzündung) [58] und Endokarditis [45] geführt.

In Rahmen einer Literaturrecherche wurden bei Rafailidis et al. [58] folgende weitere Erkrankungen in Zusammenhang mit *S. salivarius*-Infektionen genannt, akute Dünndarmentzündung (Jejunitis), Abszesse im Pankreas, Frühgeborenen Sepsis, Endokarditis (multimikrobiell bedingt), Sinusitis (Nasennebenhöhlenentzündung), Endophthalmitis (entzündliche Augenreaktion nach Augeninfektion), kleinblasige Impetigo Contagiosa (Blasenbildung auf der Haut), und femorale Osteitis. *S. salivarius* wurde kulturell als Infektionsauslöser auch aus Leberabszessen nachgewiesen [43].

Bei Zahninfektionen wurde *S. salivarius* bei 40% der Fälle molekularbiologisch detektierter antibiotikaresistenter Bakterien nachgewiesen [7; 48].

### Bakterielle Meningitis

Die meisten Fälle von Meningitis, bei denen *S. salivarius* als Auslöser identifiziert wurde, haben iatrogenen Ursprung und stehen im Zusammenhang mit der Behandlung invasiver Rückenmarkseingriffe [5]. Infektionsauslösende Stämme, die von Patienten isoliert wurden, wurden auch in der Mundhöhle des Anästhesisten bzw. Radiologie-Assistenten nachgewiesen [70]. Des Weiteren wurde *S. salivarius* induzierte Meningitis im Zusammenhang mit dem Auftreten von Fisteln und kranialen und intestinalen Traumata beschrieben [19].

Die umfassende Literaturrecherche von Wilson et al. [89] mit 64 Fallberichten zu *S. salivarius* verursachten Meningitisfällen zeigte, dass die Infektionen gleichverteilt bei Frauen und Männern eines breiten Altersspektrums auftraten. Die meisten Fälle traten bei Personen der Altersklassen 20-29 und 50-59 Jahren auf. Es konnte keine Korrelation zu einer prädisponierenden Vorerkrankung hergestellt werden. Wie bereits in anderen Studien gezeigt wurde war der Hauptanteil der *S. salivarius*-Meningitisfälle iatrogen bedingt. Meist trat die Infektion in Zusammenhang mit einer Epiduralanästhesie und einer spinalen Myelopathie auf.

Inkubationszeit: nicht bekannt.

In Fallberichten wurde bei gesunden Patienten innerhalb von 24 Stunden Symptome einer Meningitis beschrieben [z.B. 69].

Symptome: Typische Symptome einer spontan akuten Meningitis und Bakteriämie.

Vignier et al. [81] identifizierte *S. salivarius* in der Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) eines 57-jährigen Patienten mit eitriger Meningitis. Beschriebene klinische Symptome waren Symptome einer Erkältung mit klarem Nasenausfluss und 4 Tage andauernden Kopfschmerzen. Der Patient litt unter Asthma als Vorerkrankung. Die Eingangsuntersuchung zeigte erhöhte Temperatur (39.8°C), Nackenstarre und Nasenausfluss.

Schwere, Verlauf und Prognose:

Bei rechtzeitiger Diagnose (vor allem bei der bakteriellen Meningitis) und Anwendung einer adäquaten Antibiotika-Therapie ist die Prognose der Mehrzahl der *S. salivarius*-Infektionen im Allgemeinen gut.

Komplikationen/Folgekrankheiten: In seltenen Fällen kann es zu Komplikationen (Sepsis) kommen.

Pathologie: Nachweis in infiziertem Gewebe, z.B. mittels Gram-Färbung. Pathologische Veränderungen an infizierten Geweben wurden nicht dezidiert beschrieben.

Infektionsentstehung: Häufig iatrogene Übertragung bei beschriebenen Meningitis- oder Bakteriämie-Fällen.

Inzidenz/Prävalenz: nicht generell bestimmt. Meningitis-Fallzahlen aus der Studie von Wilson et al. 2012 [88] Meningitis-Fälle (durch Lumbal-Punktion während Myelografie): 23 Fälle zw. 1999-2009 und 19 Fälle zw. 1952-1998.

Mortalität/Letalität: Vereinzelte Todesfälle sind beschrieben [88]. Mortalitätsrate ist nicht bekannt.

Infektiosität/Kontagionsindex: nicht bestimmt

## **Diagnose**

Immunologische Diagnoseverfahren:

Einige *S. salivarius*-Stämme reagieren mit Lancefield Gruppe D Antiseren und können ebenfalls wie diese Streptokokken auf Galle-Aesculin-Agar wachsen, aber mittels einiger

physiologischer Tests differenziert werden [65]. Des Weiteren treten Kreuz-Reaktionen mit dem *Streptococcus pneumoniae* Antigen-überzogenen Latex Partikeln des Pastorex™ Meningitis Kit auf [69].

#### Mikrobiologische Nachweisverfahren:

Mikroskopische Erregernachweis: Gram-positive nicht bewegliche kugelförmig bis ovale Zellen mit einem Durchmesser von 0,8 bis 1,0 µm in infiziertem Gewebe und infizierter Körperflüssigkeiten (Zerebrospinalflüssigkeit; CSF). Zellen liegen paarweise oder in Form kurzer bis längerer Ketten vor.

Kultureller Erregernachweis: Aufgrund der Eigenschaft der Produktion extrazellulärer Polysaccharide kann *S. salivarius* wie andere orale Streptokokken durch Plattierung auf **Saccharose-haltigen Agarmedien** wie Trypticase-Hefeextrakt-Cystin (TYC)-Agar mit 5 % Saccharose [28] nachgewiesen werden. Als spezifisches selektives Medium kann der **Mitis Salivarius Agar** (cat no: 229810, Becton Dickinson Ltd., Oxford, UK) eingesetzt werden. Dieser ist mit den selektiven Agenzien Trypanblau (75 mg/l), Kristallviolett (0,8 mg/l) und Kaliumtellurit (3,5 mg/l) versetzt und enthält 5% Saccharose.

Gutes Wachstum wurde bei 48 h Inkubation bei 37°C unter mikroaerophilen Bedingungen in einer Atmosphäre mit 5 % [v/v] CO<sub>2</sub> erreicht. Kultivierung kann alternativ auch auf Brain-Heart Infusion (BHI) Agar, welcher mit 5% defibriniertem Schafsblut supplementiert wurde, erfolgen [55].

Subkultivierung kann auf Columbia Blut Agar (CM0331 Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) mit 5% (v/v) defibriniertem Pferdeblut erfolgen. Inkubationsbedingungen: 24h bei 37°C unter mikroaerophilen Bedingungen [55].

Phänotypische Ähnlichkeit zu *S. bovis* (-synonym: *S. equinus*) wird als potenzielles Problem bei der Routinediagnostik angegeben.

#### Molekularbiologische, PCR-basierte Verfahren

Der Nachweis von *S. salivarius* kann über Sequenzierung verschiedener funktioneller Gene neben dem 16S rRNA Gen erfolgen, *sodA* [26; 57], *rnpB* [72], *rpnB* in Kombination mit der 16-23S rRNA Intergensequenz (IGS) [53], D-alanine : D-alanine ligase (*ddl*) Gen [33; 55] bzw. 136 Genen die basierend auf Genomdaten ausgewählt wurden [59]. Artidentifikation ist möglich über Multilocus Sequenzanalyse (MLST) basierend auf etablierten MLST-Schemata [23; 24; 26; 70]. „Concatenierte“ Sequenzen von 7 Haushaltsgenen wurden bei Srinivasan et al. [70] eingesetzt, *rpoB*, *sodA*, *pyk*, *ppaC*, *tuf*, *pfl* und *map*. Bei Delorme et al. [23] wurde das MLST Schemata auf 5 „Housekeeping“ Gene fokussiert, *ddlA*, *thrS*, *pyrE*, *sodA* und *dnaE*, und dabei Gene ausgeschlossen die möglicherweise durch horizontalen Gentransfer (HGT) beeinflusst wurden [24].

Ein molekularbiologischer Nachweis von *S. salivarius* ist bei Kulturnegativen CSF Proben möglich [70]. Die DNA Extraktion aus CSF Proben kann dabei nach einem modifizierten Protokoll mit dem Qiagen Blood/Tissue DNA Extraktions Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA) erfolgen [70]. Zum einem kann *S. salivarius* mit einem Nested-PCR/Sequenzierungs-basierten Nachweis nachgewiesen und identifiziert werden. Amplifiziert und sequenziert wurde dabei das *S. salivarius* Gen *ddlA* (kodiert eine D-Alanin-D-Alanin-Ligase) [24; 70].

Andererseits kann ein Nachweis mittels Realtime-PCR erfolgen. Hierbei kommt ein Nachweissystem zum Einsatz, das auf dem Nachweis des Gens *gtfP* (kodiert eine Glucosyltransferase) basiert. Dieses System wurde bei Srinivasan et al. [70] etabliert und validiert. Im Rahmen der Etablierung wurde gezeigt, dass die Detektion nicht rein spezifisch für *S. salivarius* ist, sondern auch nahverwandte *Streptococcus* Arten, wie *S. vestibularis*, mit hoher Sensitivität detektierbar sind.

Auch die Pulsfeldgelelektrophorese kann zur Stammidentifikation eingesetzt werden [16; 35; 70].

Über kombinierte Nachweise mittels PCR/Sequenzierung des *rnpB* Gene (kodiert für die Typ B RNase P RNA) und phänotypischer Charakterisierung mittels API 20 Strep kann *S. salivarius* auf Artebene typisiert werden [84].

Diagnostischer Tierversuch: nicht bekannt.

#### Empfindlichkeitsprüfung:

Unter den Isolaten aus Blut, die bei Corredoira et al. [20] gewonnen wurden, zeigten 31% der *S. salivarius*-Isolate eine Resistenz gegen Penicillin, was auch in anderen Studien beschrieben wurde [1; 29; 75]. Dies kann bei der Versorgung von Patienten mit Endokarditis und Neutropenie problematisch sein [15; 20].

Drei Studien liegen vor die *S. salivarius* Isolate phänotypisch und genotypisch hinsichtlich der Antibiotikaresistenzen untersucht haben [16; 53; 55]. Es wurden dabei Empfindlichkeitstests durchgeführt und Antibiotika-Resistenzgene (ARG) nachgewiesen.

Palma et al. [55] führte eine Empfindlichkeitsprüfung von *S. salivarius*-Stämmen gegenüber Penicillin G, Amoxicillin, Erythromycin, Tetracyclin, Doxycyclin und Streptomycin durch. Es wurden 95 *Streptococcus salivarius*-Isolate von 22 gesunden Säuglingen (2 bis 16 Monate alt) getestet, die noch keiner Antibiotikatherapie unterzogen wurden. Unter den Stämmen, die von Säuglingen im Alter von 3 bis 8 Monaten stammten, wurden bei 83,3%, 33,3% und 16,6% der Stämme eine Resistenz gegen Erythromycin, Penicillin und Tetracyclin detektiert. Bei Stämmen von Säuglingen im Alter von 13 bis 18 Monaten waren es 100,0%, 66,6% und 50,0% der Stämme, die eine Resistenz gegen Erythromycin, Penicillins und Tetracyclin aufwiesen. Parallel wurden in der Studie von Palma et al. [55] ARG bei einem Set von 21 Isolaten erfasst. Von diesen Isolaten wurden mittels „Next Generation Sequenzierung“ deren Genome sequenziert. Es wurde dabei ein diverses Spektrum an ARG detektiert. Es wurden Gene für Makrolid Efflux Systeme (*mel*, *mefA/E* und *macB*), ribosomaler Protektion [*erm(B)*, *tet(M)* und *tet(O)*] und Beta-Lactamase-ähnlicher Proteine nachgewiesen. Des Weiteren wurden Gene detektiert die in Zusammenhang mit Resistenzen gegen DNA Replikation, dem Folat Stoffwechsel und der RNA/Protein Synthesis stehen und Multidrug Efflux Pumpen kodieren [55].

Nakajima [53] untersuchte 363 Isolate der Viridans Streptokokken, unter diesen 282 als *S. salivarius* identifizierte Isolate. Antibiotikaempfindlichkeit wurde mit der Standard Disk Diffusionstest Methode gegen Antibiotika aus vier Klassen untersucht, Beta-Lactame [Cefotaxim (50 mg), Cefuroxim (30 g)], Tetracyclin [Doxycyclin, 30 mg], Fluoroquinolon [Levofloxacin, 5 mg] und Makrolide [Erythromycin, 5 mg]. Es wurden keine Resistenzen gegen Levofloxacin und Cefuroxim gefunden und nur wenige Resistenzen gegen Cefotaxim (3,3%) und Doxycyclin (9,8%). Antibiotikaresistenzen waren am höchsten gegen



Erythromycin, hier wurden Resistenzen bei 40,9% der Isolate detektiert. In dieser Studie stellte *S. salivarius* die Art mit dem geringsten Anteil resistenter Stämme dar.

In der Studie von Chaffanel et al. [16] wurden 92 klinische und 46 kommensale *S. salivarius*-Isolate untersucht. Getestet wurde die Empfindlichkeit gegenüber Tetracyclinen (Tetracycline, 30 µg), Makroliden (Erythromycin, 15 µg; Spiramycin, 100 µg), Lincosamiden (Lincomycin, 15 µg), Aminoglycosiden (Kanamycin, 1.000 µg) und Phenicol Antibiotika (Chloramphenicol, 30 µg). Des Weiteren wurden PCR-basiert Tetracyclin Resistenzgene, *tet(M)* und *tet(O)*, Makrolid Resistenzgene, *erm(A)*, *erm(B)* und *mef(A/E)*, sowie ein Chloramphenicol Resistenzgen *catQ* detektiert. Des Weiteren wurde untersucht, in wie weit die ARG in Assoziation mit mobilen genetischen Elementen auftraten. Insgesamt waren 41% der klinischen und 24% der kommensalen Isolate empfindlich gegen alle getesteten Antibiotika. Die untersuchten Stämme zeigten eine hohe Rate an Erythromycin-Resistenzen (56% der klinischen und 75% der kommensalen Isolate). Acht Isolate waren empfindlich gegenüber Spiramycin, aber resistent gegenüber Lincomycin. Die zweithäufigsten Resistenzen traten gegen Tetracyclin auf (28% der klinischer und 17% der kommensalen Isolate). Nur 2% der klinischen und 8% der kommensalen Isolate zeigten eine Resistenz gegen Kanamycin. Nur 2% der klinischen, aber keine kommensalen Stämme zeigen eine Resistenz gegen Chloramphenicol.

Klinische Stämme wiesen die Resistenzdeterminanten *erm(B)* (Makrolid-Lincosamid-Streptogramin B [MLS<sub>B</sub>] Phänotyp) oder *mef(A/E)* (M Phänotyp) auf. Fast alle kommensalen Stämme trugen ein *mef(A/E)* Resistenzgen, und Elemente des *Macrolid Efflux Systems* (MEGA). Bei 23 klinischen und 5 kommensalen Stämmen traten die Makrolid-Resistenzgene in Verbindung mit einem genetischen Element, konjugativen Transposons der Tn916 Familie, auf. Unter diesen wurde das Tn3872 Element ( $n = 13$ ) am häufigsten gefunden, gefolgt von Tn6002 ( $n = 11$ ) und Tn2009 ( $n = 4$ ). Bei 27 klinischen und 8 kommensalen Stämmen wurden *tet*-Resistenzgene nachgewiesen. Vier Stämme trugen ein Makrolid Efflux Gen *mef(A/E)* und waren zusätzlich resistent gegen Chloramphenicol und trugen ein entsprechendes *catQ* Gen.

Therapie: Häufig werden Makrolidantibiotika (z.B. Erythromycin) und Tetracycline bei der Behandlung von *Streptococcus* Infektionen eingesetzt, wobei erhöhte Resistenzraten in den letzten Jahren auftraten (s.o.). Zur Anwendung kommen auch Cephalosporine der 3. Generation (Ceftriaxon), oft zusammen mit Dexamethason [88]. Bei Meningitis-Fällen ist die Kombinationstherapie Ceftriaxon +  $\beta$ -Lactam-Antibiotikum (z.B. Amoxicillin) + Vancomycin + Dexamethason erfolgreich [88].

Prophylaxe (Prävention): Als Präventionsmaßnahme wird für das medizinische Personal nachdrücklich das Tragen eines Mundschutzes während medizinischer Eingriffe empfohlen, v.a. bei Eingriffen im Cerebrospinalbereich [21]. Bei Risikopatienten (mit Immunschwäche) wird eine Antibiotika-Prophylaxe vor Beginn einer Zahnbehandlung empfohlen (Loyola-Rodriguez et al. [48]).

**Epidemiologie:**Übertragungswege:

Als natürlicher Besiedler der menschlichen Mundhöhle kann *S. salivarius* leicht direkt durch Kontamination steriler Behandlungsmaterialien und steriler Lösungen übertragen werden oder im Rahmen von oral-basierten Behandlungen in die Blutbahn gelangen.

Bei mehreren Fällen von iatrogen verursachter Meningitis konnte nachgewiesen werden, dass die Isolate aus der CSF mit den Isolaten aus der Mundschleimhaut der behandelnden (Radiologie) Assistenten übereingestimmt haben, die während der Behandlung keinen Mundschutz trugen [17; 68; 70]. Rubin et al. [62] beschrieb sechs Fälle von Meningitis, die nach einer Spinalanästhesie auftraten, die durch denselben Anästhesisten durchgeführt wurden. Eine Übertragung der Erreger mittels Tröpfcheninfektion bzw. generell bei nicht septischen Behandlungsbedingungen ist daher wahrscheinlich.

Mehrere unabhängige MLST-basierte Untersuchungen von klinischen und kommensalen *S. salivarius*-Isolaten zeigten keine spezifische Differenzierung dieser beiden Gruppen [16; 23; 24; 26]. Dies deutet darauf hin, dass klinische Isolate keine distinkte Population von Stämmen innerhalb der Art *S. salivarius* bilden [23].

Des Weiteren zeigten Stämme, die verschiedenen ökologischen Nischen im menschlichen Körper besiedeln, keine spezifische Differenzierung bei der MLST-Analyse, sondern wurden in den MLST-Dendrogrammen unabhängig von der Isolationsquelle gruppiert. Stämme der gleichen ökologischen Nische (z.B. Mundhöhle, Ileostoma Ausfluss) wiesen dagegen eine hohe Diversität auf [26; 78]. Detaillierte epidemiologische Studien über die Verteilung von spezifischen *S. salivarius* Populationen sind bisher nicht durchgeführt worden [23].

Eintrittspforten:

Als normaler Besiedler des menschlichen Körpers kann es bei *S. salivarius* leicht zur Kontamination steriler Körperflüssigkeiten kommen, direkt oder durch Kontamination des eingesetzten Arbeitsbesteckes. Sterile CSF kann im Rahmen von Epiduralanästhesien (EDA) oder einer Lumbalpunktion kontaminiert werden und zu Meningitis Infektionen führen [19; 21; 62; 68; 74]. Haut-assoziierte *S. salivarius*-Stämme oder über Tröpfcheninfektion transportierte *S. salivarius*-Stämme können z.B. über Katheter in das Körperinnere gelangen [50; 74; 90]. Weitere Eintrittspfade oraler *S. salivarius*-Stämme sind z.B. endoskopische Eingriffe und weitere mit dieser Art der Behandlung assoziierte therapeutische Eingriffe [20; 46; 50; 58].

In einer Arbeit von Avic et al. [4] wurde berichtet, dass bei einer durch *S. salivarius* verursachten Endokarditis bei einer stillenden Mutter, *S. salivarius* aus der Mundflora des Säuglings übertragen wurde. Bei der Frau trat ein Milchstau auf und sie erkrankte nachfolgend an einer Endokarditis [4]. *S. salivarius* wurde bei der Patientin in mehreren Blutproben nachgewiesen.

Erregerreservoir: Weltweit. Mensch, v.a. Mundhöhle des Menschen, aber auch zahlreiche andere Körperbereiche (siehe Ausführungen oben).

Zooanthroponose: nicht bekannt.

**Widerstandsfähigkeit – Tenazität:**

Endosporenbildung: keine

Resistenzen (Trocknungs-, Chemo-, Thermo-, Strahlenresistenz): nicht untersucht; entsprechend anderer Streptokokken. Relative guter Schutz durch Polysaccharid Produktion möglich.

Antibiotikaresistenz: siehe Ausführung Empfindlichkeitsprüfung oben. Es wurden mehrere Resistenzen nachgewiesen, vor allem gegen Erythromycin und Penicillin. Des Weiteren wurden mehrere entsprechende Resistenzgene nachgewiesen, vor allem gegen Tetracycline und Makrolide, häufig auch in Kombination mit transponierbaren genetischen Elementen. [16; 53; 55].

**Probiotische Wirksamkeit ausgewählter *Streptococcus salivarius*-Stämme**

Einzelne *Streptococcus salivarius*-Stämme sind als probiotisch wirksam beschrieben und können sehr förderlich für die Gesundheit sein. So können diese beim Aufbau einer gesunden Mundflora mitwirken und im Darm vor verschiedenen Krankheitserregern schützen. Der Stamm *Streptococcus salivarius* K12 produziert z.B. antibiotisch wirksame Substanzen. Die als Probiotika genutzten Stämme sind wissenschaftlich gut untersucht, kommen auch natürlicherweise im Menschen vor und gelten als ungefährlich. Die probiotischen Streptokokken können den niedrigen pH-Wert im Darm und hohe Konzentrationen der Gallensalze überstehen. Dies ist Voraussetzung dafür, dass die Bakterien die Darmgesundheit verbessern können [91-96].

**Arbeits- und Gesundheitsschutz:**

Schutzstufe/Sicherheitsstufe: **Schutzstufe 2** nach BioStoffV.

Spezielle tätigkeitsbezogene Sicherheitsmaßnahmen: Haut- und Schleimhautkontakt sowie Aerosolbildung vermeiden; Verschleppung vermehrungsfähiger Bakterien an medizinisches Instrumentarium oder in Infusionslösungen, Blutkonserven, Atemluftbefeuchter, Spülflüssigkeiten oder Desinfektionsmittellösungen verhindern.

Persönliche Schutzausrüstung (PSA): bei möglicher Aerosolbildung oder Spritzgefahr Atemschutz, Schutzbrille und Schutzhandschuhe.

Berufsbedingte Erkrankungen/gefährdete Personen und Berufsgruppen: bisher nicht bekannt.

Sofortmaßnahmen bei Unfällen/Erste Hilfe: desinfizierende Reinigung kontaminierter Bereiche, Händedesinfektion und Desinfektion kontaminierter anderer Hautoberflächen. Der Wirkungsbereich A für die Desinfektionsmittel reicht aus. Die notwendigen Einwirkzeiten ergeben sich aus den Herstellerangaben, bei Flächendesinfektionsmitteln zudem aus der gewählten Konzentration. Typischerweise sind für die Hautdesinfektion 30 Sekunden, für die Flächendesinfektion 1 Stunde anzusetzen.

Bei Kontaminationen des Auges reichliche, d.h. minutenlange Spülung mit Wasser bzw. mit der Augendusche mit Speziallösung, bei Kontaminationen der Mundschleimhaut ebenfalls ausgiebige Spülung mit Wasser bzw. mit einem Schleimhautdesinfektionsmittel (Chlorhexidin, Octenidin oder Polihexanid)

Arbeitsmedizinische Vorsorge: § 5 und Anhang Teil 2 Abs.2 Nr. 1b ArbMedVV.

Andere Regelungen: Einzelne *Streptococcus salivarius*-Stämme (z.B. K12 und M18) sind als probiotisch wirksam beschrieben und können sehr förderlich für unsere Gesundheit sein. So können diese beim Aufbau einer gesunden Mundflora mitwirken und im Darm vor verschiedenen Krankheitserregern schützen.

## Referenzen

1. Alcaide, F., Linares, J., Pallarés, R., Carratalá, J., Benitez, M., Gudiol, F. & Martin, R. (1995) In vitro activities of 22 beta-lactam antibiotics against penicillin-resistant and penicillin-susceptible viridans group streptococci isolated from blood. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 2243–2247.
2. Andrewes, F.W. & Horder, T.J. (1906) A study of the streptococci pathogenic for man.
3. Avada, A., van der Auwera, P., Meunier, F., Daneau, D. & Klasterky, J. (1992) Streptococcal and enterococcal bacteremia in patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* 15: 33–48.
4. Avic, S. Capolat, U., Kalayci, S., Gül, M. & Cagli, K. (2014) Nightmare of a Breastfeeding Mother: Aortic Valve Endocarditis due to *Streptococcus salivarius* after Breast Engorgement. *West. Indian. Med. J.* 63: 390.
5. Baer, E.T. (2006) Post-dural puncture bacterial meningitis. *Anesthesiology* 105: 381-393.
6. Barretto, C., Alvarez-Martin, P., Foata, F., Renault, P. & Berger, B. (2012) Genome sequence of the lantibiotic bacteriocin producer *Streptococcus salivarius* strain K12. *J. Bacteriol.* 194: 5959–5960.
7. Beighton, D., Carr, A.D. & Oppenheim, B.A. (1994) Identification of viridans streptococci associated with bacteraemia in neutropenic cancer patients. *J. Med. Microbiol.* 40: 202–204.
8. Beighton, D., Hardie, J.M. & Wwhiley, R.A. (1991) A scheme for the identification of viridans streptococci. *J. Med. Microbiol.* 35: 367–372.
9. Bouhemad, B., Dounas, M., Mercier, F. J., & Benhamou, D. (1998) Bacterial meningitis following combined spinal-epidural analgesia for labour. *Anaesthesia*, 53: 292-295.
10. Bouvier, M., Lejereine, E., Rouillat, M., & Wolfrom, C. (1979) Osteite femorale avec isolement in situ d'un *Streptococcus salivarius*. *Nouv. Presse Med.* 8: 3899–3900.
11. Bowden, G. H., Ellwood, D. C. & Hamilton, I. R. (1979) Microbial ecology of the oral cavity. *Adv. Microb. Ecol.* 3: 135-217.
12. Burton, J.P., Wescombe, P.A., Macklaim, J.M., Chai, M.H., Macdonald, K., Hale, J.D., Tagg, J., Reid, G., Gloor, G.B. & Cadieux, P.A. (2013). Persistence of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* M18 is dose dependent and megaplasmid transfer can augment their bacteriocin production and adhesion characteristics. *PLoS ONE* 8, e65991.
13. Cabellos, C., Viladrich, P., Corredoira, J., Verdaguer, R., Ariza, J. & Gudiol, F. (1999) Streptococcal meningitis in adult patients: current epidemiology and clinical spectrum. *Clin. Infect. Dis.* 28: 1104–1108.
14. Carratalá, J., Alcaide, F., Fernández-Sevilla, A., Corbella, X., Linares, J. & Gudiol, F. (1995) Bacteremia due to viridian streptococci that are highly resistant to penicillin: increase among neutropenic patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* 20: 1169–1173.

15. Carratalá, J. & Gudiol, F. (1995) Life-threatening infections due to penicillin-resistant viridans streptococci. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 8: 123–126
16. Chaffanel, F., Charron-Bourgoin, F., Libante, V., Leblond-Bourget, N. & Payot, S. (2015) Resistance genes and genetic elements associated with antibiotic resistance in clinical and commensal isolates of *Streptococcus salivarius*. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 4155–4163.
17. Chitnis, A.S., Guh, A.Y., Benowitz, I., Srinivasan, V., Gertz Jr., R.E., Shewmaker, P.L., Beall, B.W., O'Connell, H., Noble-Wang, J., Gornet, M.F., Van Beneden, C., Patrick, S.L., Turabelidze, G. & Patel, P.R. (2012) Outbreak of bacterial meningitis among patients undergoing myelography at an outpatient radiology clinic. *J. Am. College Radiol. JACR* 9: 185–190.
18. Collins, M.D., Jones, D., Farrow, J.A.E., Kilpper-Balz, R. & Schleifer, K.H. (1984b) *Enterococcus avium* nom. rev., comb. nov., *Enterococcus casseliflavus* nom. rev., comb. nov., *Enterococcus durans* nom. rev., comb. nov., *Enterococcus gallinarum* comb. nov., and *Enterococcus malodoratus* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34: 220–223.
19. Conte, A., Chinello, P., Civljak, R., Bellussi, A., Noto, P. & Petrosillo, N. (2006) *Streptococcus salivarius* meningitis and sphenoid sinus mucocele. Case report and literature review. *J. Infect.* 52: e27-30.
20. Corredoira, J.C., Alonso, M.P., Garcia, J.F., Casariego, E., Coira, A., Rodriguez, A., Pita, J., Louzao, C., Pombo, B., Lopez, M.J., & Varela, J. (2005) Clinical characteristics and significance of *Streptococcus salivarius* bacteremia and *Streptococcus bovis* bacteremia: a prospective 16-year study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24: 250–255.
21. Couzigou, C., Vuong, T. K., Botharel, A. H., Aggoune, M. & Astagneau, P. (2003) Iatrogenic *Streptococcus salivarius* meningitis after spinal anaesthesia: need for strict application of standard precautions. *J. Hospital Infect.* 53: 313-314.
22. Coykendall, A.L. & Gustafson, K. B. (1985) Deoxyribonucleic acid hybridizations among strains of *Streptococcus salivarius* and *Streptococcus bovis*. *Int. J. Syst. Microbiol.* 35: 274-280.
23. Delorme, C., Abraham, A.L., Renault, P. & Guédon, E. (2015) Genomics of *Streptococcus salivarius*, a major human commensal. *Infect. Genet. Evol.* 33: 381-392.
24. Delorme, C., Bartholini, C., Bolotine, A., Ehrlich, S.D. & Renault, P. (2010) Emergence of a cell wall protease in the *Streptococcus thermophilus* population. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 451–460.
25. Delorme, C., Guédon, E., Pons, N., Cruaud, C., Couloux, A., Loux, V., Chiapello, H., Poyart, C., Gautier, C., Sanchez, N., Almeida, M., Kennedy, S.P., Ehrlich, S.D., Gibrat, J.F., Wincker, P. & Renault, P. (2011) Complete genome sequence of the clinical *Streptococcus salivarius* strain CCHSS3. *J. Bacteriol.* 193: 5041-5042.
26. Delorme, C., Poyart, C., Ehrlich, S.D. & Renault, P. (2007) Extent of horizontal gene transfer in evolution of Streptococci of the salivarius group. *J. Bacteriol.* 189: 1330–1341.
27. Denis, F., Fleurette, J., Laurans, G., et al. (1984). A latex agglutination technique for rapid, direct identification of pneumococci in blood cultures. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 3: 321-322.
28. de Stoppelaar, J.D., van Houte, J. & de Moor, C.E. (1967) The presence of dextran-forming bacteria, resembling *Streptococcus bovis* and *Streptococcus sanguis*, in human dental plaque. *Arch. Oral Biol.* 12: 1199–1202.
29. Doern, G., Ferraro, M., Brueggemann, A. & Ruoff, K. (1996) Emergence of high rates of antimicrobial resistance among viridans group streptococci in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 891–894.

30. Doyuk, E., Ormerod, O.J. & Bowler, I.C. (2002) Native valve endocarditis due to *Streptococcus vestibularis* and *Streptococcus oralis*. *J. Infect.* **45**: 39–41.
31. Facklam, R. (2002) What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin. Microbiol. Rev.* **15**: 613–630.
32. Farrow, J.A.E. & Collins, M.D. (1984) DNA base composition, DNA-DNA homology and long-chain fatty acid studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.* **130**: 357-362.
33. Garnier, F., Gerbaud, G., Courvalin, P. & Galimand, M. (1997) Identification of clinically relevant viridans group streptococci to the species level by PCR. *J. Clin. Microbiol.* **35**: 2337–2341.
34. Guédon, E., Delorme, C., Pons, N., Cruaud, C., Loux, V., Couloux, A., Gautier, C., Sanchez, N., Layec, S., Galleron, N., Almeida, M., van de Guchte, M., Kennedy, S.P., Ehrlich, S.D., Gibrat, J.F., Wincker, P., & Renault, P. (2011) Complete genome sequence of the commensal *Streptococcus salivarius* strain JIM8777. *J. Bacteriol.* **193**: 5024-5025.
35. Haenni, M., Saras, E., Bertin, S., Leblond, P., Madec, J.Y. & Payot S. (2010) Diversity and mobility of integrative and conjugative elements in bovine isolates of *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, and *S. uberis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**: 7957–7965.
36. Heidemann, D., Dunns, S. & Haimann, M. (1989) *S. salivarius* endophthalmitis from contaminated donor cornea after keratoplasty. *Am. J. Ophthalmol.* **107**: 429–430.
37. Heng, N.C., Haji-Ishak, N.S., Kalyan, A., Wong, A.Y., Lovric, M., Bridson, J.M., Artamonova, J., Stanton, J.A., Wescombe, P.A., Burton, J.P., Cullinan, M.P. & Tagg, J.R. (2011) Genome sequence of the bacteriocin-producing oral probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18. *J. Bacteriol.* **193**: 6402–6403.
38. Hoecker, J.L., Pickering, D., Groschel, D. & Kohl, S. (1978) *Streptococcus salivarius* sepsis in children with malignancies. *J. Pediatr.* **92**: 337–338.
39. Holmberg, H., Danielsson, D., Hardie, J., Krook, A. & Whiley, R. (1985) Cross reactions between  $\alpha$ -streptococci and Omniserum, a polyvalent pneumococcal serum, demonstrated by direct immunofluorescence, immune electro osmophoresis, and latex agglutination. *J. Clin. Microbiol.* **21**: 745-748.
40. Hower, R.T., Lock, C.M., & Moore L.V.H. (1990) Subspecies names automatically created by Rule 46. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **40**: 317-319.
41. Hull, M.W. & Chow, A.W. (2005) An approach to oral infections and their management *Curr. Infect. Dis. Rep.* **7**: 17–27.
42. Hyink, O., Wescombe, P.A., Upton, M., Ragland, N., Burton, J.P. & Tagg, J.R. (2007). Salivaricin A2 and the novel lantibiotic salivaricin B are encoded at adjacent loci on a 190-kilobase transmissible megaplasmid in the oral probiotic strain *Streptococcus salivarius* K12. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 1107–1113.
43. Kamachi, S., Otsuka, T., Tsuji, C., Nakashita, S., Die, Y. & Mizuta, T. (2014). [A case of multiple liver abscesses associated with *Streptococcus salivarius* in a patient with chronic periodontitis]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi.* **111**: 1602-1608. [Article in Japanese]
44. Kazor, C.E., Mitchell, P.M., Lee, A.M., Stokes, L.N., Loesehe, W.J., Dewhirst, F.E. & Paster, B.J. (2003) Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 558-563.

45. Kitten, T., Munro, C.L., Zollar, N.Q., Lee, S.P. & Patel, R.D. (2012) Oral streptococcal bacteremia in hospitalized patients: taxonomic identification and clinical characterization. *J. Clin. Microbiol.* 50, 1039–1042.
46. Lee, T. H., Hsueh, P. R., Yeh, W. C., Wang, H. P., Wang, T. H. & Lin, J. T. (2000). Low frequency of bacteremia after endoscopic mucosal resection. *Gastrointestinal Endoscopy*, 52: 223-225.
47. Levesque, C., Vadeboncoeur, C. & Frenette, M. (2004) The *csp* operon of *Streptococcus salivarius* encodes two predicted cell-surface proteins, one of which, CspB, is associated with the fimbriae. *Microbiology* 150: 189–198.
48. Loyola-Rodriguez, J.P., Garcia-Cortes, J.O., Martinez-Martinez, R.E., Patiño-Marin, N., Martinez-Castañon, G.A., Zavala-Alonso, N.V. & Amano, A. (2014) Molecular identification and antibiotic resistant bacteria isolated from primary dentition infections. *Aust Dent J.* 59: 497-503.
49. Mandapat, A.L., Eddleman, C.S., Bissonnette, M.L., Batjer, H.H. & Zembower, T.R. (2011). Idiopathic pontine *Streptococcus salivarius* abscess in an immunocompetent patient: management lessons through case illustration and literature review. *Scand J Infect Dis.* 43: 837-847
50. Megarbane, B., Casetta, A., Esvant, H., Marchal, P., Axler, O., & Brivet, F. G. (2000) *Streptococcus salivarius* acute meningitis with latent petromastoiditis. *Scand. J. Infect. Diseases* 32, 322-323
51. Montague, E.A. & Knox, K.W. (1968) Antigenic components of the cell wall of *Streptococcus salivarius*. *J Gen Microbiol.* 54: 237-246.
52. Nakanishi, H., Kido, A., Ohmori, T., Takada, A., Hara, M., et al. (2009) A novel method for the identification of saliva by detecting oral streptococci using PCR. *Forensic Sci. Int.* 183: 20-23.
53. Nakajima, T., Nakanishi, S., Mason, C., Montgomery, J., Leggett, P., Matsuda, M., Coulter, W.A., Millar, B.C., Goldsmith, C.E. & Moore, J.E. (2013) Population structure and characterization of viridans group streptococci (VGS) isolated from the upper respiratory tract of patients in the community. *Ulster Med. J.* 82: 164–168.
54. Orla-Jensen, S. (1919) *The Lactic Acid Bacteria*. Host & Son, Copenhagen.
55. Palma, T.H., Harth-Chú, E.N., Scott, J., Stipp, R.N., Boisvert, H., Salomão, M.F., Theobaldo, J.D., Possobon, R.F., Nascimento, L.C., McCafferty, J.W., Faller, L., Duncan, M.J. & Mattos-Graner, R.O. (2016) Oral cavities of healthy infants harbour high proportions of *Streptococcus salivarius* strains with phenotypic and genotypic resistance to multiple classes of antibiotics. *J. Med. Microbiol.* 65:1456-1464.
56. Pearce, C., Bowden, G.H., Evans, M., Fitzsimmons, S.P., Johnson, J., Sheridan, M.J., Wientzen, R. & Cole, M.F. (1995) Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J. Med. Microbiol.* 42: 67–72.
57. Poyart, C., Quesne, G., Coulon, S., Berche, P. & Trieu-Cuot, P. (1998) Identification of streptococci to species level by sequencing the gene encoding the manganese dependent superoxide dismutase. *J. Clin. Microbiol.* 36: 41–47.
58. Rafailidis, P. I., Prapas, S. N., Kasiakou, S. K., Costeas, X. F. & Falagas, M. E. (2005) Effusive-constrictive calcific pericarditis associated with *Streptococcus salivarius*. Case report and review of the literature. *Cardiol. Rev.* 13: 113-117.
59. Richards, V.P., Palmer, S.R., Pavinski Bitar, P.D., Qin, X., Weinstock, G.M., Highlander, S.K., Town, C.D., Burne, R.A. & Stanhope, M.J. (2014) Phylogenomics and the dynamic genome evolution of the genus *Streptococcus*. *Genome Biol. Evol.* 6: 741–753.

60. Romero, M. & Larraona, J.L. (1999) Pancreatic abscess due to *Streptococcus salivarius* after dental manipulation. *Am. J. Gastroenterol.* **94**: 1987–1988.
61. Rotimi, V.O., Olowe, S.A. & Ahmed, I. (1985) The development of bacterial flora of premature neonates. *J. Hyg.* **94**: 309–318.
62. Rubin L, Sprecher H, Kabaha A, Weber G, Teitler N, et al. (2007) Meningitis following spinal anesthesia: 6 cases in 5 years. *Infect Control Hosp Epidemiol* **28**: 1187–1190.
63. Ruiz, M. & Soriano, F. (1994) [Clinical significance of bacteremia caused by streptococci of the viridans group]. Significado clinico de la bacteriemia por estreptococos del grupo viridans. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **12**: 426–432.
64. Ruoff, K., Ferraro, M., Holden, J. & Kunz, L. (1984) Identification of *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius* in clinical laboratories. *J. Clin. Microbiol.* **20**: 223–226.
65. Ruoff, K., Miller, S., Garner, C., Ferraro, M. & Calderwood, S. (1989) Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 305–308.
66. Schleifer, K.H., Ehrmann, M., Krusch, U. & Neve, H. (1991) Revival of the species *Streptococcus thermophilus* (ex Orla-Jensen, 1919) nom. rev. *Syst. Appl. Microbiol.* **14**: 386–388.
67. Schleifer K.H. & Klipper-Bälz, R. (1984) Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **34**: 31-34.
68. Shewmaker, P.L., Gertz Jr., R.E., Kim, C.Y., de Fijter, S., DiOrio, M., Moore, M.R. & Beall, B.W. (2010) *Streptococcus salivarius* meningitis case strain traced to oral flora of anesthesiologist. *J. Clin. Microbiol.* **48**: 2589–2591.
69. Shirokawa, T., Nakajima, J., Hirose, K., Suzuki, H., Nagaoka, S. & Suzuki, M. (2014) Spontaneous meningitis due to *Streptococcus salivarius* subsp. *salivarius*: cross-reaction in an assay with a rapid diagnostic kit that detected *Streptococcus pneumoniae* antigens. *Intern Med.* **53**: 279-282.
70. Srinivasan, V., Gertz Jr., R.E., Shewmaker, P.L., Patrick, S., Chitnis, A.S., O'Connell, H., Benowitz, I., Patel, P., Guh, A.Y., Noble-Wang, J., Turabelidze, G. & Beall, B. (2012) Using PCR-based detection and genotyping to trace *Streptococcus salivarius* meningitis outbreak strain to oral flora of radiology physician assistant. *PLoS ONE* **7**: e32169.
71. Swenson, F. & Rubin, S. (1982) Clinical significance of viridans streptococci isolated from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* **15**: 725–727.
72. Tapp, J., Thollesson, M. & Herrmann, B. (2003). Phylogenetic relationships and genotyping of the genus *Streptococcus* by sequence determination of the RNase P RNA gene, *rnpB*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 1861–1871.
73. Tappuni, A.R. & Challacombe, S. J. (1993) Distribution and isolation frequency of eight streptococcal species in saliva from predentate and dentate children and adults. *J. Dent. Res.* **72**: 31–36.
74. Trautmann, M., Lepper, P. M. & Schmitz, F. J. (2002) Three cases of bacterial meningitis after spinal and epidural anesthesia. *European J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **21**: 43-45.
75. Tuohy, M. & Washington, J. (1997) Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci. *Diagn. Microbiol. Infect Dis.* **29**: 277–280.
76. Validation List no. 15. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1984, **34**, 355-357
77. Validation List no. 54. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1995, **45**, 619-620.
78. van den Bogert, B., Erkus, O., Boekhorst, J., de Goffau, M., Smid, E.J., Zoetendal, E.G. & Kleerebezem, M. (2013) Diversity of human small intestinal *Streptococcus* and *Veillonella* populations. *FEMS Microbiol. Ecol.* **85**: 376–388.



79. Vanzo, S.J., & Washington, J.A. (1984) Evaluation of a rapid latex agglutination test for identification of group D streptococci. *J Clin Microbiol* 20: 575-576.
80. Veringa, E., van Belkum, A., & Schellekens, H. (1995) Iatrogenic meningitis by *Streptococcus salivarius* following lumbar puncture. *J. Hospital Infect.* 29: 316-318.
81. Vignier, N., Couzigou, C., Nguyen Van, J.C., Gerber, S., Gaillard, S., Bruel, C., Misset, B., Kitzis, M.D., Le Monnier, A. (2014) Diagnosis and treatment strategies for community-acquired *Streptococcus salivarius* meningitis. *Med Mal Infect.* 44, 42-44.
82. Wescombe, P.A., Burton, J.P., Cadieux, P.A., Klesse, N.A., Hyink, O., Heng, N.C., Chilcott, C.N., Reid, G. & Tagg, J.R. (2006) Megaplasms encode differing combinations of lantibiotics in *Streptococcus salivarius*. *Ant.Van Leeuw.* 90: 269–280.
83. Wescombe, P.A., Upton, M., Renault, P., Wirawan, R.E., Power, D., Burton, J.P., Chilcott, C.N. & Tagg, J.R. (2011) Salivaricin 9, a new lantibiotic produced by *Streptococcus salivarius*. *Microbiol.* 157: 1290–1299.
84. Westling, K., Julander, I., Ljungman, P., Vondracek, M., Wretling, B. & Jalal, S. (2008) Identification of species of viridans group streptococci in clinical blood culture isolates by sequence analysis of the RNase P RNA gene, *mpB*. *J Infection* 56: 204–210.
85. Whiley, R. & Beighton, D. (1998) Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol. Immunol.* 13: 195–216.
86. Whiley, R. A. & Hardie, J.M. (1988) *Streptococcus vestibularis* sp. nov. from the human oral cavity. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38: 335–339.
87. Whiley, R. A. & Hardie, J. M. (2015). *Streptococcus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.* 1–86.
88. Wilson, M., Martin, R., Walk, S.T., Young, C., Grossman, S., McKean, E.L. & Aronoff, D.M. (2012) Clinical and laboratory features of *Streptococcus salivarius* meningitis: a case report and literature review. *Clin. Med. Res.* 10: 15-25.
89. Wisplinghoff, H., Reinert, R. R., Cornely, O. & Seifert, H. (1999) Molecular relationships and antimicrobial susceptibilities of viridans group streptococci isolated from blood of neutropenic cancer patients. *J. Clin. Microbiol.* 37: 1876-1880.
90. Yaniv, L. G., & Potasman, I. (2000) Iatrogenic meningitis: an increasing role for resistant viridans streptococci? Case report and review of the last 20 years. *Scand. J. Infect. Diseases* 32: 693-696.
91. Burton, J.P., Chilcott, C.N., Wescombe, P.A., Tagg, J.R. (2010) Extended safety data for the oral cavity probiotic *Streptococcus salivarius* K12. *Probiotics Antimicrob. Proteins* 3: 135-44. (doi: 10.1007/s12602-010-9045-4.)
92. Burton, J.P., Drummond, B.K., Chilcott, C.N., Tagg, J.R., Thomson, W.M., Hale, J.D.F. & Wescombe, P.A. (2013) Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J. Med. Microbiol.* 62: 875-884.
93. Burton, J.P., Wescombe, P.A., Macklaim, J.M., Chai, M.H.C., MacDonald, K., Hale, J.D.F., Tagg, J.R., Reid, G., Gloor, G.B. & Cadieux, P.A. (2013) Persistence of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* M18 is dose dependent and megaplasmid transfer can augment their bacteriocin production and adhesion characteristics. *PLoS ONE* B (6): e6S991. doi:10.1371/
94. Heng, N.C.K., Haji-Ishak, N.S., Kalyan, A., Wong, A.Y.C., Lovric, M., Bridson, J.M., Artamonova, J., Stanton, J.-A.L., Wescombe, P.A., Burton, J.P., Cullinan, M.P. & Tagg, J.R. (2011) Genome sequence of the bacteriocin-producing oral probiotic *Streptococcus salivarius* Strain M18. *J. Bacteriol.* 193: 6402-6403.

95. Jia, F. (2016) Genome sequence of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* JF. *Genome Announc* 4(S):e00971-16. doi:10.1128/genomeA00971-16.
96. Wescombe, P.A., Heng, N.C., Burton, J.P., Chilcott, C.N. & Tagg, J.R. (2009) Streptococcal bacteriocins and the case for *Streptococcus salivarius* as model oral probiotics. *Future Microbiol.* 4 (7): 819-35.