

**BIANCA DE LIMA MORAIS**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
*Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE QUADROS  
CLÍNICOS DE INFECÇÃO URINÁRIA**



Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia.

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
RIO DE JANEIRO  
ABRIL/2023**

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Médica, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação do Professor Dr. Sérgio Eduardo Longo Fracalanza e coorientação da Dra Ana Caroline Nunes Botelho.

## FICHA CATALOGRÁFICA

### CIP - Catalogação na Publicação

M827i      Morais, Bianca de Lima  
IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE Streptococcus  
agalactiae ISOLADOS DE QUADROS CLÍNICOS DE INFECÇÃO  
URINÁRIA / Bianca de Lima Morais. -- Rio de  
Janeiro, 2023.  
56 f.

Orientador: Sergio Fracalanza.  
Coorientadora: Ana Caroline Botelho.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto  
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:  
Microbiologia e Imunologia, 2023.

1. Streptococcus agalactiae. 2. infecção  
urinária. 3. sorotipos. 4. resistência. I.  
Fracalanza, Sergio, orient. II. Botelho, Ana  
Caroline, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES/ UFRJ  
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA  
APROVAÇÃO NO RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE  
CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

**ALUNA:** BIANCA DE LIMA MORAIS **DRE:** 118039975

**BANCA EXAMINADORA:** Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho (Presidente)  
Profa. Karla Rodrigues Miranda  
Dra. Andrea de Andrade Rangel de Freitas  
M.Sc. Isis Hazelman Vieira dos Anjos (Suplente)

Título da Monografia: “**Identificação e caracterização de *Streptococcus agalactiae* isolados de quadros clínicos de infecção urinária**”

Local: Sala virtual <https://meet.google.com/chr-cuss-beg>

Data e hora de início: **11 de abril de 2023 às 09:00h**

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota **8,0** neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelo presidente da banca examinadora, aluno, orientador (ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 11 de abril de 2023.

NOTA

Banca Examinadora:

8,0 Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

8,0 Profa. Karla Rodrigues Miranda

8,0 Dra. Andrea de Andrade Rangel de Freitas

\_\_\_\_ M.Sc. Isis Hazelman Vieira dos Anjos

Presidente da banca:



Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

Aluno:

Bianca de Lima Morais

Bianca de Lima Morais

Orientador:

  
Sergio E.L. Fracalanza

Ana Caroline Nunes Botelho

Prof. Sergio Eduardo Longo Fracalanza / Coorientador: Dra. Ana Caroline Nunes Botelho

Coordenador de TCC:



Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus anjos da guarda que me acompanham e não me deixaram desistir ao longo do processo. Nada disso seria possível sem a ajuda d'Aquele que nunca me abandonou.

Aos meus pais Maria do Socorro e José Ribamar, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, nas inúmeras noites sem dormir, em cada choro, em cada dificuldade. Sei que foi difícil, mas nunca duvidaram da minha capacidade e isso me move a tentar ser 1% melhor a cada dia. Amo vocês de todo o meu coração e esse trabalho é nosso!

Ao meu orientador Professor Dr. Sérgio Fracalanza, pela sua paciência, sensibilidade, companheirismo e confiança incondicionais. Sou infinitamente grata.

À minha co orientadora Dra. Ana Caroline Botelho que me acompanhou de perto e me apoiou sem medir esforços, muito obrigada!

À professora Dra. Bernadete Carvalho e presidente desta banca, obrigada pelo apoio e paciência nos momentos difíceis e cansativos, minha eterna gratidão!

À banca por ter aceitado meu convite e estar participando de um momento tão significativo para mim.

Às amigas de caminhada, Jéssica e Priscila que estiveram e estão ao meu lado na graduação e na vida.

À Millena, minha amiga gêmea, que me fez enxergar que era possível ingressar na UFRJ, um sonho que parecia tão distante para nós e ambas conseguimos. É surreal pensar que falávamos que era impossível e hoje estamos concluindo nossas graduações.

À Roberta, amiga de pré-vestibular que nunca largou minha mão mesmo antes da graduação.

À minha maritaca, Marineide Cristina (*in memoriam*) que me deu todo o amor do mundo nos 6 anos em que esteve comigo e infelizmente me deixou em fevereiro de 2022. Nunca pensei que sentiria tanto a sua falta e que choraria todas as vezes que me lembrasse da sua perda. Sempre te disse que estava saindo pra estudar não só por mim, mas por nós. Que teríamos um apartamento e muito girassol se a mamãe fosse estudar e acho que você entendia. Infelizmente você não está mais aqui e sinto um vazio acompanhado de uma dor enorme, mas te levo pra sempre no meu coração e vou seguir te amando incondicionalmente para o resto da vida.

## RESUMO

BIANCA DE LIMA MORAIS

### IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE QUADROS CLÍNICOS DE INFECÇÃO URINÁRIA

Orientador: Sergio Eduardo Longo Fracalanza

Coorientador: Ana Caroline Nunes Botelho

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A espécie *Streptococcus agalactiae* (“group B *Streptococcus*”, GBS) coloniza as mucosas de seres humanos, principalmente as do trato intestinal e genitourinário, de forma assintomática e, eventualmente, pode causar infecções em adultos. A infecção do trato urinário (ITU) é comum, podendo ocorrer em todas as idades. Indivíduos do sexo feminino são mais acometidos pela infecção por via ascendente quando comparados aos indivíduos de sexo masculino. Em gestantes, a ITU pode levar a complicações como parto prematuro. Em crianças, os sintomas podem ser menos específicos como irritabilidade, perda do apetite, dor ao urinar, febre baixa, entre outros. A cápsula polissacarídica é considerada o principal atributo de virulência, além de permitir a divisão da espécie em 10 tipos sorológicos. O tratamento das infecções causadas por GBS é realizado através da administração de antibióticos beta lactâmicos ou, em caso de alergia, com macrolídeos, lincosamidas ou quinolonas. O objetivo do presente estudo foi caracterizar amostras de GBS isoladas de material clínico (urina) obtido de adultos não gestantes no período de janeiro de 2020 a agosto de 2022 no Rio de Janeiro, segundo solicitação do médico assistente, em laboratórios de análises clínicas, e cedidas posteriormente para a pesquisa no Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica (LIMM) do IMPG-UFRJ. As amostras foram conservadas em caldo BHI (20% de glicerol) em freezer a -20°C e submetidas a testes fenotípicos de identificação. A técnica de MALDI-TOF também foi realizada para fins de confirmação da identificação das amostras. A susceptibilidade aos antimicrobianos foi determinada através da técnica de disco-difusão, seguindo as recomendações do CLSI. O tipo sorológico foi determinado por aglutinação em



látex. Um total de 37 amostras foram incluídas neste estudo e todas foram confirmadas como pertencentes à espécie *S. agalactiae*, tanto pelas técnicas convencionais como por MALDI-TOF. Todas as amostras apresentaram susceptibilidade à penicilina e à vancomicina. No entanto, 27% (10) das amostras apresentaram-se resistentes à eritromicina, 8,1% (3) foram resistentes à clindamicina e levofloxacina e 75,7% (28) foram resistentes à tetraciclina. Os sorotipos mais encontrados foram V (37,8%), seguido do Ia e II (19% cada), III (10,8%), IX (8%), Ib e IV (2,7% cada). Os resultados obtidos neste estudo permitiram a obtenção de informações sobre amostras de GBS isoladas de quadros de ITU, cujos dados são escassos no Brasil.

**Palavras-chave:** *Streptococcus agalactiae*, sorotipos, resistência, infecção urinária.

## ABSTRACT

BIANCA DE LIMA MORAIS

### IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE QUADROS CLÍNICOS DE INFECÇÃO URINÁRIA

Orientador: Sergio Eduardo Longo Fracalanza

Coorientador: Ana Caroline Nunes Botelho

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

*Streptococcus agalactiae* (“group B *Streptococcus*”, GBS) colonizes the mucous membranes of human beings, mainly those of the intestinal and genitourinary tracts, in an asymptomatic way and, eventually, can cause infections in adults. Urinary tract infection (UTI) is common and can occur at all ages. Female individuals are more affected by ascending infection when compared to male individuals. In pregnant women, UTI can lead to complications such as premature birth. In children, symptoms may be less specific, such as irritability, loss of appetite, painful urination, low fever, among others. The polysaccharide capsule is considered the main attribute of virulence, in addition to allowing the division of the species into 10 serological types. Treatment of infections caused by GBS is carried out by administering beta-lactam antibiotics or, in case of allergy, with macrolides, lincosamides or quinolones. The aim of the present study was to characterize GBS isolated from clinical material (urine) obtained from non-pregnant adults, at the request of the attending physician, in clinical analysis laboratories, and later transferred for research at the Laboratory of Investigation in Medical Microbiology (LIMM) from IMPG-UFRJ. The isolates were preserved in BHI broth (20% glycerol) in a -20°C freezer and submitted to phenotypic identification tests. The MALDI-TOF technique was also performed to confirm isolates identification. Antimicrobial susceptibility was determined using the disk-diffusion technique, following CLSI recommendations. The serological type was determined by latex agglutination. A total of 37 isolates were included in this study and all were confirmed as belonging to the *S. agalactiae* species, both by conventional techniques and by MALDI-TOF. All isolates showed

susceptibility to penicillin and vancomycin. However, 27% (10) of the isolates were resistant to erythromycin, 8.1% (3) were resistant to clindamycin and levofloxacin and 75.7% (28) were resistant to tetracycline. The most common serotypes were V (37.8%), followed by Ia and II (19% each), III (10.8%), IX (8%), Ib and IV (2.7% each). The results obtained in this study will allow obtaining information of GBS isolated from UTI cases, for which data are scarce in Brazil.

**Keywords:** *Streptococcus agalactiae*, serotypes, resistance, urinary tract infection.

## RESUMO PARA PESSOAS LEIGAS

BIANCA DE LIMA MORAIS

### IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE QUADROS CLÍNICOS DE INFECÇÃO URINÁRIA

Orientador: Sergio Eduardo Longo Fracalanza

Coorientador: Ana Caroline Nunes Botelho

Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

*Streptococcus agalactiae* (GBS) é uma bactéria que pode causar diversas doenças em humanos de qualquer idade, desde recém-nascidos a idosos e/ou pessoas com baixa imunidade. Em recém-nascidos, pode causar meningite, infecção sanguínea e em alguns casos, óbito. Em adultos não gestantes, infecção urinária e pneumonia. A infecção do trato urinário (ITU) é comum, podendo ocorrer em todas as idades. Mulheres são mais afetadas por esse tipo de infecção. O tratamento é feito através do uso de antibióticos e apesar de ainda ser altamente sensível à penicilina, em indivíduos alérgicos devem-se utilizar outros tipos de antibióticos para os quais a bactéria nem sempre é sensível. O objetivo deste estudo foi caracterizar amostras de GBS isoladas de urina de pacientes adultos não gestantes. As amostras de GBS foram identificadas e suas características como resistência aos antibióticos e sorotipo investigadas. Os resultados obtidos neste estudo permitirão a obtenção de informações sobre amostras de GBS isoladas de quadros de ITU, cujos dados são escassos no Brasil.

**Palavras-chave:** *Streptococcus agalactiae*, sorotipos, resistência, infecção urinária.

## ÍNDICE

<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO PARA PESSOAS LEIGAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Infecções do trato urinário.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 <i>Streptococcus agalactiae</i>.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Epidemiologia mundial.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Fatores de virulência.....</b>	<b>7</b>
<b>1.5 Tratamento e resistência antimicrobiana.....</b>	<b>11</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>15</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1 Amostras bacterianas.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2 Caracterização fenotípica de <i>S. agalactiae</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.1 Características coloniais e hemolíticas.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.2 Coloração de Gram.....</b>	<b>18</b>
<b>4.2.3 Teste de CAMP.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2.4 Teste de hidrólise do hipurato de sódio.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2.5 MALDI-TOF.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2.6 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.....</b>	<b>20</b>
<b>4.2.7 Sorotipificação das amostras.....</b>	<b>21</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>5.1 Testes fenotípicos para identificação presuntiva .....</b>	<b>22</b>
<b>5.2 Confirmação da identificação .....</b>	<b>22</b>
<b>5.3 Determinação do tipo capsular.....</b>	<b>23</b>
<b>5.4 Susceptibilidade aos antimicrobianos .....</b>	<b>24</b>

<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>31</b>
<b>Anexo 1.....</b>	<b>42</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Infecções do trato urinário

O trato urinário é composto pelos rins, ureteres, bexiga e uretra, sendo os três primeiros órgãos normalmente estéreis em homens e mulheres. A uretra, particularmente a uretra anterior, por outro lado, possui uma microbiota, diferenciada, sendo quantitativa e qualitativamente mais acentuada entre as mulheres. Nos homens, a próstata também é considerada parte do trato urinário, sendo uma glândula que fica localizada na parte baixa do abdômen e situada na frente do reto e abaixo da bexiga. A próstata envolve também a porção inicial da uretra (INCA, 2021).

Infecções do trato urinário (ITUs) podem acometer o trato urinário baixo, que compreende uretra e bexiga, causando cistite, e/ou o trato urinário alto (rins e ureteres), causando pielonefrite. Neste caso, há o risco de sepse, sendo responsável por centenas de milhares de internações anualmente (Haddad e Fernandes, 2018). As ITUs acometem indivíduos das mais diversas faixas etárias. Indivíduos do sexo feminino tendem a desenvolver essa infecção com maior frequência pelo fato de que a região genital fica muito próxima ao ânus, além de possuir uma uretra mais curta sendo essa condição anatômica uma grande facilitadora para o desenvolvimento das infecções (Haddad e Fernandes, 2018).

As ITUs são bastante comuns na população, sendo consideradas a segunda causa mais comum entre as doenças infecciosas que acometem os seres humanos (Correia, Costa, Peres, et al., 2007). Em adição, as ITUs contribuem com até 40% de todas as infecções adquiridas nos hospitais e quase 50% das bacteremias que prolongam a internação, aumentando assim as taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes (Klumpp *et al.*, 2006; Mathai *et al.*, 2001; Saint *et al.*, 2008). A maioria das infecções do trato urinário são causadas pelas bactérias Gram-negativas entéricas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter* e *Enterobacter*, além daquelas não fermentadoras como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Por outro lado, bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus spp.* e *Enterococcus faecalis* também são comumente encontradas (Flores-Mireles *et al.*, 2015; Mann *et al.*, 2017). Entre as espécies do gênero *Streptococcus*, *Streptococcus agalactiae* (GBS, do inglês “Group B *Streptococcus*”) é isolada em um grande número dos casos. Essa espécie faz parte da microbiota do trato gastrointestinal de adultos, podendo assim facilitar o acesso desse microrganismo ao trato genital tanto feminino como masculino. Neste, além da infecção urinária baixa, também pode

ser considerado como agente etiológico de pielonefrite e prostatite em idosos. Sua incidência é mais elevada em pacientes com fatores debilitantes como diabetes *mellitus*, entre outros (Collin, Shetty e Lamagni, 2020).

## 1.2 *Streptococcus agalactiae*

O gênero *Streptococcus* são cocos Gram-positivos, catalase negativa, anaeróbios facultativos e não-formadores de esporos. São nutricionalmente exigentes, crescendo bem em ágar sangue. *S. agalactiae* está presente nas mucosas de seres humanos, colonizando o trato gastrointestinal e genitourinário (Le Doare e Health, 2013). Apresenta características comuns à espécie, sendo classificado como beta-hemolítico, e apresentando o antígeno específico de grupo na sua parede celular (carboidrato C), sendo a estrutura central deste antígeno composto por ramnose, glicose e fosfato e possuindo cadeias laterais trissacarídicas compostas por ramnose, galactose e n-acetilglicosamina (Curtis e Krause, 1964; Teixeira, Pinto e Merquior, 2015). Esse composto caracteriza o antígeno do grupo B de acordo com a classificação de Lancefield. Espécies contendo os antígenos dos grupos A, B, C, F ou G são consideradas as de maior relevância na microbiologia médica (Lancefield, 1933; Curtis e Krause, 1964; Jesen e Killian, 2012; Teixeira, Pinto e Merquior, 2015).

Isolado inicialmente do leite bovino, no ano de 1887, *S. agalactiae* foi associado exclusivamente à mastite bovina até o ano de 1930. A partir daí sua presença na colonização de seres humanos foi descrita (Fry, 1938). A partir da década de 1960 em diante, a importância dessa espécie como causa de morbidade e mortalidade em recém-nascidos começou a ser notada, chamando a atenção da classe médica para essa espécie (Mc Cracken, 1973; Munoz *et al.*; 1997; Phares *et al.*, 2008; Becker, 2013). Na década de 1990, *S. agalactiae* emergiu como importante agente de quadros de infecções invasivas em adultos não gestantes, principalmente naqueles pacientes com algum fator debilitante como a idade avançada e imunocomprometimento (Munoz *et al.*; 1997; Phares *et al.*, 2008; Becker, 2013).

*S. agalactiae* pode ser encontrado colonizando, assintomaticamente, o trato vaginal e cervical de 5 a 30% das gestantes. Assim, há a possibilidade desse microrganismo ser transmitido ao feto ou ao recém-nascido causando infecções que podem ser classificadas como precoce ou tardias. Cerca de 90% das infecções ocorrem como forma precoce, ou seja, em até 7 dias após o nascimento. O quadro clínico pode variar de quadros de pneumonia até septicemia



e meningite (Chen, Avci e Kasper, 2013; Le Doare e Health, 2013). A transmissão desse microrganismo aos recém-nascidos pode ocorrer dentro do útero por meio do líquido amniótico contaminado ou através da passagem pelo canal vaginal colonizado por *S. agalactiae* (Yook *et al.*, 2013). O risco de infecção precoce aumenta de acordo com fatores maternos como o parto prematuro, alto nível de colonização vaginal e bacteriúria por *S. agalactiae* (Melin, 2011; Yook *et al.*, 2013). Na síndrome de início tardio, que ocorre de 7 dias até 90 dias após o nascimento (CDC, 2010), o quadro clínico mais encontrado é a bacteremia associada à meningite. Essas infecções podem ser adquiridas no contato com o canal de parto de mães colonizadas ou no contato após o nascimento com a mãe ou profissionais da saúde, que têm contato direto com a criança ou até mesmo no ambiente hospitalar (Gibbs, Schrag e Schuchat, 2004; Schrag e Verani, 2013).

Em adultos não gestantes, o número de casos de infecções invasivas por GBS vem aumentando e, nesses grupos, os quadros mais comuns são a bacteremia, pneumonia, infecções de pele e tecidos moles (Craig *et al.*, 2009; Skoff *et al.*, 2009) e na maioria destes casos as infecções são associadas a outros fatores clínicos como as doenças renais, imunossupressão e distúrbios neurológicos (Phares *et al.*, 2008; Collin *et al.*, 2019).

Quadros de ITUs também são frequentes em adultos não gestantes, mesmo na ausência de outras comorbidades (Skoff *et al.*, 2009; Arias *et al.*, 2019; Vigliarolo *et al.*, 2019). No Brasil e em outros países, a presença de GBS entre os patógenos causadores de infecções urinárias em humanos tem sido relatada em aproximadamente 30% dos casos (Nakamura *et al.*, 2011; Allen e Yudin, 2012; Schuab *et al.*, 2015).

Além dos humanos, outros animais, mamíferos ou não, podem sofrer infecções e/ou serem colonizados por GBS, como bovinos, caprinos, peixes e crocodilos, sendo um importante patógeno para estas espécies, entre outros (Keefe, 1997; Hansen *et al.*, 2004; Bishop *et al.*, 2007; Phares *et al.*, 2008; Mian *et al.*, 2009; Keskin *et al.*, 2011). Em bovinos e caprinos, *S. agalactiae* pode sobreviver por um longo período nas glândulas mamárias, gerando mastite clínica e subclínica, que promove um grande impacto econômico na indústria de laticínios. Nos rebanhos, a transmissão de GBS é contagiosa, podendo ser transmitida entre os animais ou no contato com utensílios e máquinas infectadas e utilizadas na ordenha (Zadoks *et al.*, 2011). Em peixes marinhos e de água doce, selvagens ou em sítios de criação, GBS pode causar doenças bacterianas graves levando a meningoencefalite e septicemia. A transmissão ocorre no contato

direto entre os peixes ou no contato com água contaminada. No Brasil, GBS é considerado um importante patógeno em fazendas de criação da Tilápia do Nilo, com alta virulência para esses animais (Mian *et al.*, 2009). Existe também a possibilidade de que ocorra transmissão direta entre gado e os seres humanos, trazendo dúvidas se a colonização e/ou infecção bovina constitui perigo para a saúde humana (Oliveira *et al.*, 2006; Zadoks *et al.*, 2011).

É possível realizar a identificação presuntiva de GBS a partir da observação do crescimento de colônias pequenas em ágar sangue de carneiro apresentando uma zona de beta-hemólise característica e a realização de testes bioquímicos pois essa espécie possui particularidades como a produção de fator CAMP e capacidade de hidrolisar o hipurato de sódio (Koneman, 2008). Na sua grande maioria, as amostras de GBS isoladas de seres humanos apresentam beta-hemólise, enquanto as amostras de origem animal são geralmente não hemolíticas (Teixeira, Pinto e Merquior, 2015).

### **1.3 Epidemiologia mundial**

A taxa de colonização de mulheres grávidas por GBS na vagina e/ou reto é muito semelhante em todo o mundo, com algumas variações entre 10 a 30% nos Estados Unidos, 6,5% a 36% na Europa, 7,1 a 16% na Ásia, 9,1 a 25,3 % no Oriente Médio e 11,9 a 31,6% na África (Schuchat, 1998; Barcaite *et al.*, 2008; Ipolito *et al.*, 2010; Verani *et al.*, 2010).

No Brasil, as taxas observadas variam conforme o estado da federação: 20,4% no Maranhão (Costa *et al.*, 2008), 25,4% em São Paulo (Marconi *et al.*, 2010), 15,96% em Porto Alegre (De-Paris *et al.*, 2011), 28,7% em Santa Catarina (Feuerschuetz *et al.*, 2012), e 14,6% em Campinas (Simões *et al.*, 2007). Botelho (2014) encontrou uma taxa de colonização de GBS de 24% no Rio de Janeiro.

O estado de colonização por GBS, no entanto, é intermitente e pode ser transitório durante a gravidez. Gestantes colonizadas no início ou no meio da gravidez podem se transformar em negativos no parto, ou ao contrário, pacientes não colonizadas durante quase toda a gravidez podem se tornar positivas no momento do parto (Hansen *et al.*, 2004; Verani *et al.*, 2010). Portanto, o momento da triagem de GBS e coleta de amostras é importante para se prever, com precisão, o *status* da colonização no parto. De acordo com as diretrizes do CDC, a possível colonização intraparto é melhor determinada no final do terceiro trimestre em torno de 5 semanas antes do parto. Embora as taxas de colonização do GBS possam parecer bastante

semelhantes em diferentes regiões do mundo, a prevalência e a distribuição dos sorotipos são geograficamente distintas.

Apesar de GBS representar apenas uma pequena fração do total de ITUs, a carga de ITU por GBS é um grande problema de saúde pública, com aproximadamente 160.000 casos anualmente nos EUA. Entre adultos não grávidas, a incidência de infecções sistêmicas por GBS é estimada em aproximadamente 4,4 casos por 100.000 indivíduos; 14% destes são casos de ITUs complicadas. Condições subjacentes comuns de indivíduos com ITUs complicadas por GBS incluem diabetes *mellitus*, malignidade, doença renal crônica, infecções recorrentes do trato urinário, obstrução neuropatia e bexiga neurogênica. Em cerca de 30% dos casos, infecções sistêmicas causadas por GBS em adultos não grávidas não têm uma origem focal aparente, como celulite, pneumonia ou ITU (Kline & Lewis, 2017).

A classificação do sorotipo é baseada em um polissacarídeo capsular rico em ácido siálico (CPS), que é um dos fatores de virulência mais importantes no GBS e está envolvido na persistência e sobrevivência do GBS no hospedeiro. O CPS desempenha um papel crítico na evasão imune através de seu mimetismo com epítomos de carboidratos do hospedeiro. Também interfere nas vias de defesa dependentes do sistema complemento, ameniza a função fagocítica dos neutrófilos e facilita a internalização bacteriana e a sobrevivência intracelular dentro das células dendríticas. Além disso, CPS pode mediar a formação de biofilme de GBS na presença de plasma humano (Lemire *et al.*, 2012; Pezzicoli *et al.*, 2012; Chang *et al.*, 2014a, b; Xia *et al.*, 2015). Assim, devido às variações antigênicas e estruturais do CPS, 10 sorotipos distintos (Ia, Ib e II-IX) são reconhecidos até o momento (Slotved *et al.*, 2007; Le Doare e Heath, 2013).

A distribuição e predominância de sorotipos é suscetível a variações e pode mudar ao longo do tempo. Os sorotipos Ia, Ib, II, III e V são colonizadores prevalentes nos Estados Unidos e na Europa (Johri *et al.*, 2006; Ipolito *et al.*, 2010; Lamagni *et al.*, 2013; Melin e Efstratiou, 2013; Florindo *et al.*, 2014; Fabbrini *et al.*, 2016). Os sorotipos VI e VIII são os mais prevalentes entre as mulheres grávidas no Japão (Lachenauer *et al.*, 1999; Matsubara *et al.*, 2002) enquanto os sorotipos IV e V predominam nos Emirados Árabes Unidos e Egito, respectivamente (Amin *et al.*, 2002; Shabayek *et al.*, 2014). O sorotipo Ia é comum no México e é mais frequente na América do Norte em comparação com outras áreas (Ipolito *et al.*, 2010). O sorotipo IX de GBS caracterizado mais recentemente, foi relatado na Dinamarca (Slotved *et al.*, 2007). Por outro lado, cepas do sorotipo III compõem o clone invasivo mais dominante,

responsável pela maioria dos casos de meningite de início tardio em neonatos (Lamy *et al.*, 2006; Tazi *et al.*, 2010; Bellais *et al.*, 2012; Florindo *et al.*, 2014; Alhazmi *et al.*, 2016), enquanto os sorotipos Ia e V são cepas invasivas dominantes em casos não gestantes (Phares *et al.*, 2008; Alhazmi *et al.*, 2016). No entanto, estudos recentes indicam o surgimento de cepas invasivas do sorotipo IV em neonatos e adultos (Ferrieri *et al.*, 2013; Teatero *et al.*, 2015; Alhazmi *et al.*, 2016) e entre linhagens colonizadoras (Diedrick *et al.*, 2010).

Um cenário semelhante pode ser esperado para os sorotipos VI e VIII, que raramente são relatados fora do Japão. Na Malásia, o sorotipo VI foi encontrado entre as cepas colonizadoras dominantes e o segundo isolado mais comum em adultos com infecções de pele e tecidos moles por GBS (Karunakaran *et al.*, 2009; Dhanoa *et al.*, 2010). No Egito, o sorotipo VI foi relatado como um sorotipo colonizador comum em mulheres (Shabayek *et al.*, 2014). Recentemente, Lin *et al.*, (2016) relataram uma disseminação clonal do sorotipo VI entre isolados colonizadores e invasivos no centro de Taiwan. Da mesma forma, vários estudos identificaram cepas esporádicas do sorotipo VIII tanto como cepas colonizadoras quanto como agentes causadores de doença invasiva por GBS (Paoletti *et al.*, 1999; Hoshino *et al.*, 2002; Ekelund *et al.*, 2003; Karunakaran *et al.*, 2009; Ipolito *et al.*, 2010; Alhazmi *et al.*, 2016). O surgimento de sorotipos semelhantes foi relatado anteriormente para o sorotipo V nos Estados Unidos e na Europa (Hickman *et al.*, 1999; Flores *et al.*, 2015).

Uma crescente diversidade de sorotipos de GBS, bem como a troca de sorotipos, representam estratégias de evasão imunológica que podem prejudicar os esforços de vacina, que atualmente depende de uma vacina conjugada incorporando um número limitado de sorotipos de GBS. Um monitoramento atento da mudança na distribuição de sorotipos que ocorre em muitos países diferentes é crucial para orientar o desenvolvimento da vacinação contra o GBS.

A prevenção das infecções por *S. agalactiae* através da vacinação é extremamente desejável uma vez que as vacinas atuam na prevenção das síndromes neonatais e combatem o surgimento e disseminação de cepas resistentes. Existem vários estudos em andamento sobre vacinas à base de polissacarídeos capsulares que, em testes experimentais, estimulam a formação de anticorpos altamente protetores. Testes clínicos de fase 2 com vacinas conjugadas englobando os seis principais sorotipos de *S. agalactiae* (Ia, Ib, II, III, IV e V) têm demonstrado imunogenicidade e segurança. Uma alternativa, contudo, consiste na utilização de proteínas

como alvos vacinais de forma que se obtenha proteção independente de sorotipo, destacando-se as da família Alp, a C5a peptidase, a proteína  $\beta$ , as proteínas de pilus, a Sip, entre outras. Os resultados destes estudos são bastante promissores, principalmente os obtidos com vacinas contendo o polissacarídeo conjugado a uma proteína carreadora e contendo subunidades de proteínas da família Alp. Apesar de ainda não haver nenhuma vacina licenciada para uso até o momento, tais propostas vacinais encontram-se em estágio avançado de desenvolvimento (WHO, 2021).

#### 1.4 Fatores de virulência

*S. agalactiae* tem diversos fatores de virulência tanto em sua superfície como extracelulares, os quais têm papel significativo tanto na patogenicidade do microrganismo como em outras funções como a evasão do sistema imune inato e conseqüentemente no sucesso de seu estabelecimento no hospedeiro (Maisey, Doran e Nizet, 2008).

##### a) Cápsula

A cápsula polissacarídica de GBS é composta por subunidades repetitivas de oligossacarídeos, sendo constituída por diversos açúcares e ligações glicosídicas e sua classificação varia de acordo com sua composição (Hacker, 2018). A cápsula é um fator de virulência estrutural que é responsável por proteger o microrganismo contra a fagocitose, inibindo a ação do sistema complemento e evitando, assim, a deposição de C3b na superfície de GBS o que contribui auxiliando em sua evasão (Marques *et al.*, 1992; Herbert, Beveridge e Saunders, 2004). Estudos sugerem que há uma possibilidade de “switching” capsular entre as amostras de GBS por meio da transferência horizontal de genes o que resultaria na variação antigênica da cápsula, podendo ter um papel importante na evasão da resposta imune do hospedeiro (Davies *et al.*, 2004; Luan *et al.*, 2005; Von Both *et al.*, 2008).

GBS também apresenta em sua superfície celular diversas proteínas que podem ser expostas ou secretadas para o meio extracelular contribuindo para a virulência deste microrganismo.

##### b) C5a peptidase

É uma serina protease que é codificada pelo gene *scpB* e é expressa na superfície celular de GBS. A C5a peptidase é imunogênica e atua clivando o fator C5a do sistema complemento. A molécula permanece ligada à bactéria, porém perde a propriedade da quimiotaxia que é

responsável pelo recrutamento de neutrófilos para o local de infecção (Herbert, Beveridge e Saunders, 2004).

Beckmann e colaboradores (2002) demonstraram que essa enzima é capaz de se ligar à fibronectina imobilizada que está presente na matriz extracelular. A enzima reconhece um sítio gerado pela justaposição das regiões amino-terminais de diversas moléculas de fibronectina, sítio este que não existe em moléculas solúveis (Hull *et al.*, 2008). A C5a peptidase também seria um fator importante na colonização e invasão de GBS no epitélio do tecido pulmonar (Cheng *et al.*, 2002).

#### c) Proteínas ALP (*alpha-like proteins*)

A família de proteínas ALP inclui a proteína alfa, as proteínas Rib e Alp 1 a 4 (Wastfeld *et al.*, 1997, Lachenauer *et al.*, 2000; Bolduc *et al.*, 2002) que têm, provavelmente, papel de invasinas e possuem um sítio de variação antigênica promovendo o escape da resposta imune do hospedeiro.

#### d) Proteína Bac

A proteína beta, conhecida também como Bac, ou proteína ligadora de IgA, localiza-se na superfície bacteriana geralmente em amostras do tipo Ib (Heden, Frithz e Lindahl, 1991; Berner *et al.*, 2002; Jarva *et al.* 2003; Lindahl, Sthalhammar-Carlénalm e Areschoug, 2005).

#### e) Proteínas ligadoras de fibrinogênio (Fbs)

O gene *fbsA* codifica a proteína FbsA, presente na superfície bacteriana e capaz de se ligar ao fibrinogênio humano, uma glicoproteína que constitui a matriz extracelular dos tecidos epitelial e endotelial (Schubert *et al.*, 2002). A deleção deste gene resulta na dificuldade da associação com fibrinogênio que pode influenciar negativamente na capacidade de aderência de *S. agalactiae* às células epiteliais de pulmão (Schubert *et al.*, 2004) e na capacidade de virulência em modelo de sepse e de artrite em camundongos (Jonsson *et al.*, 2005). Por outro lado, a proteína FbsA ajuda na promoção da formação de uma camada de fibrinogênio na superfície celular bacteriana, podendo influenciar na evasão da resposta imune (Pierno *et al.*, 2006).

A proteína de superfície FbsB é codificada pelo gene *fbsB* e, diferentemente de FbsA, tem um sítio de interação com fibrinogênio localizado na porção amino terminal, sem unidades repetitivas (Gutekunst *et al.*, 2004). A deleção de *fbsB* não resultou em mudanças na aderência às células epiteliais pulmonares nem ao fibrinogênio. FbsB pode ser secretada ou estar associada

à parede e possui uma afinidade menor para o fibrinogênio imobilizado quando comparado a FbsA (Gutekunst *et al.*, 2004; Pierno *et al.*, 2006).

#### f) BibA

É uma proteína (do inglês: *group B Streptococcus Immunogenic Bacterial Adhesin*) codificada pelo gene *bibA* e se expressa na superfície bacteriana (Santi *et al.*, 2007). A deleção do gene *bibA* foi associada à redução na capacidade de sobrevivência em sangue total humano fresco, na resistência aos microbicidas dependentes por neutrófilos humanos, na virulência em infecções em camundongos e na redução da adesão em culturas de células epiteliais cervicais e pulmonares.

#### g) Ácido lipoteicóico e estruturas

O ácido lipoteicóico é um polímero de polifosfoglicerol que é ancorado à membrana celular por interação hidrofóbica da sua parte glicolípídica (Poyart *et al.*, 2003; Doran *et al.*, 2005). Devido a sua propriedade como adesina, pode ter importância na virulência do GBS (Ginsburg, 2002). A ligação do ácido lipoteicóico à membrana celular tem como ligante um glicolípídio conhecido como diglicosildiácilglicerol (*IagA*), o qual é codificado pelo gene *iagA*, um gene associado também à invasão a barreira sangue-cérebro (Doran *et al.*, 2005).

#### h) Pili

São estruturas filamentosas que se projetam da superfície bacteriana em bactérias Gram-positivas e foram relatadas por diversos autores (Ton-That e Schneewind, 2004; Soriani e Telford, 2010). Essas estruturas se assemelham aos pili encontrados em bactérias Gram-negativas, embora em Gram-positivos os componentes da proteína do pilus sejam ligados por ligações covalentes. Pili em GBS foram descobertos durante a busca por antígenos proteicos expostos na superfície celular que pudessem ser utilizados com alvos no desenvolvimento de vacinas (Lauer *et al.*, 2005). A microscopia eletrônica de varredura revelou longos apêndices atravessando a cápsula que cobre a superfície bacteriana.

Os genes que codificam o pilus de GBS estão agrupados em três ilhas genômicas relacionadas (Ilhas PI-1, -2a e -2b) localizadas em dois *loci* separados, flanqueados por repetições diretas e genes conservados. Todas as ilhas contêm três genes que codificam os componentes do pilus, ou seja, uma proteína essencial para a montagem do pilus (BP) e duas proteínas acessórias (AP1 e AP2), além de dois genes que codificam enzimas sortases que catalisam a ligação covalente das proteínas do pilus em polímeros longos (Dramsai *et al.*, 2006;



Rosini *et al.*, 2006). As proteínas do pilus de PI-1 e PI-2b diferem por muito poucos aminoácidos, enquanto PI-2a é mais variável. O papel dos pili na colonização e infecção do hospedeiro em bactérias Gram-positivas foi estudado por diversos autores. Manetti *et al.* (2010) sugeriram em seu estudo a participação dos pili na adesão celular e formação de biofilme em *S. pyogenes*. Um outro estudo utilizando como modelo o GBS investigou a formação de biofilme de 289 isolados clínicos, sendo observada uma correlação entre a alta exposição superficial do pilus 2a e o fenótipo de formação de biofilme (Rinaudo *et al.*, 2010).

i) Fator CAMP (Christie, Atkins e Munch- Petersen, 1994)

É uma proteína formadora de poros na membrana de células do hospedeiro sendo capaz de levar à lise celular (Lang e Palmer, 2003), porém tem papel um pouco controverso na patogênese das infecções causadas por GBS (Hensler *et al.*, 2008).

j) Beta-hemolisina

É uma citolisina formadora de poros que se apresenta não- imunogênica e estável em relação ao oxigênio, sendo codificada pelo gene *cylE* (Nizet, 2002). Possíveis locais e diferentes modos de ação da beta-hemolisina *in vivo* levam ao dano do epitélio pulmonar (Doran, Liu & Nizet, 2003; Hensler *et al.*, 2005) e promovem a infiltração de leucócitos no fluido cérebro espinhal (Doran *et al.*, 2003).

k) Biofilme

O biofilme é uma comunidade bacteriana embebida em uma matriz polimérica e aderida à uma superfície inerte. Constitui um importante fator de virulência que favorece a permanência e persistência do microrganismo no corpo do hospedeiro, dificultando a ação de antimicrobianos devido à sua matriz exopolissacarídica. A formação do biofilme ocorre quando células planctônicas se aderem umas às outras e à uma superfície, levando à formação de uma matriz de exopolissacarídeos. Nessa comunidade as bactérias ficam em seu estado sésil com atividade metabólica baixa, além disso, as bactérias vivem de forma cooperativa (Martinez-Gutierrez *et al.*, 2013; Boonyayatra *et al.*, 2016).

Rinaudo *et al.* (2010) avaliaram a capacidade de diferentes cepas de GBS formarem biofilme. Nesse estudo foram descobertas evidências de que amostras humanas de GBS podem formar biofilmes em superfícies abióticas e bióticas e que o pilus tipo 2a está envolvido na formação de biofilme. No estudo de Parker *et al.* (2016) foi observado que amostras isoladas de quadros invasivos formavam biofilme mais fracos que aquelas isoladas de colonização.



Sabe-se que as condições ambientais são fatores que influenciam diretamente a formação do biofilme em diversas espécies bacterianas (Froelicher e Fives-Taylor, 2001; Moscoso *et al.*, 2006; Manetti *et al.*, 2007; Rosini e Margarit, 2015). Diferentes variáveis foram investigadas por vários autores em relação à formação de biofilme em GBS, entre elas, diversas variações de pH de neutro a ácido (Kaur *et al.*, 2009; Borges *et al.*, 2012 e, Yang *et al.*, 2012). Foi observado uma maior formação de biofilme em pH 6,5 quando comparado ao pH 4,2. Em contraste, Ho *et al.* (2013) descobriram que o pH baixo induziu a formação do biofilme em meio limitado por nutrientes (M9YE) mas não em meios ricos como Todd-Hewitt Broth (THB). Konto-Ghiorghi *et al.* (2009) relataram que um biofilme uniforme foi produzido apenas em Caldo Luria Bertani e RPMI 1640 suplementado com 1% de glicose. A necessidade de glicose para a formação do biofilme por GBS foi confirmada por Rinaudo e colaboradores, que também demonstraram que este açúcar não afeta o crescimento bacteriano planctônico (Rinaudo *et al.*, 2010).

Estudo com *Streptococcus pyogenes* avaliou o efeito de aumento do biofilme com adição de glicose e mostrou que esse resultado foi diretamente relacionado com a acidificação devido à produção metabólica de ácidos orgânicos (Manetti *et al.*, 2010). Evidência de que o pH ácido e não a concentração de glicose foi o responsável pelo sinal ambiental que levou à formação do biofilme do GBS *in vitro* foi obtido por D'Urso *et al.* (2014).

### **1.5 Tratamento e resistência antimicrobiana**

*S. agalactiae*, assim como a grande maioria dos estreptococos beta-hemolíticos, sempre foi considerado uniformemente sensível aos antibióticos beta-lactâmicos, que inclui penicilina e ampicilina (Betriu *et al.*, 1994, Shabayek *et al.*, 2018). Entretanto, nas duas últimas décadas, têm sido relatadas a identificação de cepas com sensibilidade diminuída à penicilina (Kimura *et al.*, 2008; Longtin *et al.*, 2011; Nagano *et al.*, 2012; Khodaeia *et al.*, 2018), causada por alterações nas proteínas ligadoras de penicilina PBP-1a, -2a e -2x (Kimura *et al.*, 2008). No entanto, o caráter esporádico desses relatos reafirma a escolha da penicilina, para a profilaxia intraparto na gestante (CDC, 2010).

Em pacientes alérgicos aos beta-lactâmicos, as principais opções são a utilização de antibióticos das classes dos macrolídeos e lincosaminas. No entanto, entre amostras de GBS, índices variáveis e crescentes de resistência a eritromicina e clindamicina vêm sendo reportados

de acordo com a região geográfica (Willems *et al.*, 2011; Garland *et al.*, 2011, Khodaeia *et al.*, 2018). Dois diferentes mecanismos podem ser os responsáveis por essa resistência: um baseado na modificação do sítio-alvo do antimicrobiano e outro baseado no efluxo do antimicrobiano.

Estudos revelaram que os índices de resistência à eritromicina podem chegar a 35% na França (Tazi *et al.*, 2011), 46% em Taiwan (Hsueh *et al.*, 2001) e 54% nos EUA (Dipersio e Dipersio, 2006). Nos Estados Unidos, no ano de 2016, foram contabilizadas cerca de 31.000 infecções graves por GBS, causando 1.700 mortes, sendo que as cepas GBS resistentes à clindamicina causaram mais de 40% das infecções. A resistência à eritromicina é ainda mais comum – mais de 50% (CDC). Isso limita seriamente as opções de prevenção e tratamento da doença por GBS.

No Brasil, os índices de resistência a macrolídeos e lincosaminas mantêm-se relativamente discretos se comparados aos índices internacionais, variando desde 2% de resistência aos no primeiro estudo nacional (Benchetrit *et al.*, 1982) até valores de resistência entre 4% e 15% em estudos mais recentes (João *et al.*, 2011; Correa *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2013; Dutra *et al.*, 2014; Botelho *et al.*, 2018; Sanches *et al.*, 2021).

Para outras classes de antimicrobianos de uso clínico, as amostras de GBS tendem a apresentar índices uniformemente e relativamente altos de susceptibilidade, exceto em relação à tetraciclina. Na Argentina, Lopardo *et al.* (2003) observaram índices de resistência de 72% enquanto na Tunísia, Ferjani e colaboradores, em 2006, encontraram valores de até 98% de resistência. Da mesma forma, altos índices de resistência (cerca de 90%) foram detectados em amostras de GBS isoladas de humanos no Brasil (Duarte *et al.*, 2005; Corrêa *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2013; Dutra *et al.*, 2014; Botelho *et al.*, 2018). Em relação aos índices de resistência ao cloranfenicol foram observados desde valores muito baixos como 1% nos Estados Unidos (Murdoch e Reller, 2001) e na Nova Zelândia (Werno, Anderson & Murdoch, 2003) até valores elevados de até 23% na Coreia (Uh *et al.*, 2004), o que pode demonstrar especificidades regionais quanto ao uso desse antimicrobiano naquela população ou em animais de criação.

A classe das quinolonas compreende vários antimicrobianos com ampla utilização em microbiologia médica, como a ciprofloxacina, levofloxacina, ofloxacina, entre outros. Para *S. agalactiae*, a maioria das amostras é sensível a esta classe, com baixos níveis de resistência (até 4%) detectados em estudos realizados na Espanha, Estados Unidos, França e Rússia (Borchardt *et al.*, 2006; Miró *et al.*, 2006; Belokrysenko, Pavlova e Kuksiuk, 2007; Tazi *et al.*, 2008). No

entanto, Murayama *et al.* (2009) detectaram índices elevados de resistência à levofloxacina (23,8%) em cepas isoladas de infecções invasivas em humanos no Japão.

No Brasil, a presença de GBS entre os patógenos causadores de infecções urinárias em humanos tem sido relatada (Nakamura *et al.*, 2011). Em adição, um pequeno percentual (0,6%) dessas amostras apresentou resistência à levofloxacina. Estudo posterior do mesmo grupo detalhou esta resistência, confirmando-a através da concentração inibitória mínima (Barros *et al.*, 2012). Esses autores mostraram ainda que o mecanismo de resistência foi independente da ação de bombas de efluxo, mas dependente de mutações pontuais nos genes *gyrA* e *parC* na região de resistência às quinolonas do DNA (Barros *et al.*, 2012). Ainda nesse estudo, foram determinados os perfis de polimorfismo do DNA de amostras suscetíveis e resistentes à levofloxacina, por PFGE (*pulsed field gel electrophoresis*), após digestão pela enzima *SmaI*. Os resultados mostraram uma tendência não clonal entre as amostras resistentes à levofloxacina. Perfis semelhantes sugerindo ausência de clonalidade foram observados em outros estudos (Miro *et al.*, 2006; Tazi *et al.*, 2008). No entanto, Murayama *et al.*, 2009) observaram tendência à clonalidade entre amostras de GBS resistentes às fluoroquinolonas isoladas de pacientes com infecção invasiva. Da mesma forma, um estudo realizado na Argentina, por Faccone *et al.* (2010), observou entre 9 amostras resistentes às fluoroquinolonas, a presença de 2 clones distintos.

A resistência às fluoroquinolonas foi detectada também em outros estudos. Na Argentina (Arias *et al.*, 2019) detectou 14,8% de resistência às quinolonas entre 162 amostras de GBS invasivas isoladas entre 2014 e 2015. Em pacientes com câncer, internados em um hospital no Rio de Janeiro, Sanches *et al.* (2021) detectaram 7,3% de resistência à norfloxacin entre as amostras de GBS. Na Itália, Simoni *et al.* (2018) encontraram 11 (2,99%) amostras resistentes à levofloxacina entre 368 amostras isoladas entre os anos de 2010 e 2016. Um dado interessante observado foi que apesar da rara existência de amostras resistentes ao cloranfenicol em *S. agalactiae*, das 11 amostras citadas, 4 eram também resistentes ao cloranfenicol.

Por outro lado, Zhang *et al.* (2021) encontraram entre 14 (66,7%) de 21 amostras invasivas pertencentes ao ST-10 e sorotipo Ib, isoladas na região de Shanxi na China entre 2018 e 2020, resistência a eritromicina, lincomicina e fluoroquinolonas, mas sensibilidade à tetraciclina. Outros autores também encontraram alta resistência às fluoroquinolonas na China (Wang *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2017). A determinação dos perfis de polimorfismo do DNA de

amostras suscetíveis e resistentes à levofloxacina, por PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), após digestão pela enzima *SmaI* mostrou uma tendência não clonal entre as amostras não sensíveis à levofloxacina. Resultados semelhantes sugerindo ausência de clonalidade foram observados em outros estudos (Miro *et al.*, 2006; Tazi *et al.*, 2008). No entanto, Murayama *et al.* (2009) observaram tendência à clonalidade entre amostras de GBS resistentes às fluoroquinolonas isoladas de pacientes com infecção invasiva. Da mesma forma, um estudo realizado na Argentina, por Faccone *et al.* (2010), observou entre 9 amostras resistentes às fluoroquinolonas, a presença de 2 clones distintos.

Assim, esses resultados sugerem que a resistência de GBS às quinolonas pode ter um componente clonal e que precisa ser investigado em diferentes tipos de amostras isoladas de quadros clínicos diversos, para gerar um nível de informação importante que possa ser utilizada em futuros esquemas terapêuticos para GBS.

## 2 JUSTIFICATIVA

*S. agalactiae* é um importante patógeno humano, que pode causar quadros clínicos importantes não só em recém-natos, mas também em adultos com comprometimento imune ou não. O estudo das características das cepas isoladas de adultos, assim como a susceptibilidade aos antimicrobianos têm sido motivo de poucos estudos no Brasil, onde a grande maioria dos autores utilizaram cepas obtidas de gestantes e de recém natos. Por outro lado, o quadro de infecção urinária em mulheres e homens por *S. agalactiae*, apesar de menos comum que aqueles causados por bacilos Gram-negativos entéricos como a *Escherichia coli*, merece atenção especial, particularmente pelo aparecimento de níveis em ascensão de resistência de *S. agalactiae* de diferentes sítios à quinolonas. O tratamento de ITUs é geralmente empírico sendo as quinolonas utilizadas muitas das vezes.

Neste trabalho serão avaliadas as características de *S. agalactiae* isoladas de quadros de infecção urinária no Rio de Janeiro que possam trazer informações relevantes para a melhor compreensão do papel desse microrganismo e do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar fenotipicamente amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes com infecção urinária com a finalidade de ampliar o conhecimento sobre esse microrganismo nesse tipo de infecção.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Confirmar fenotipicamente a identificação das amostras de *S. agalactiae* isolados de quadros de infecção urinária significativa de janeiro de 2020 a agosto de 2022 na cidade do Rio de Janeiro, tanto de mulheres como de homens, incluídas neste estudo, por métodos convencionais e pela técnica de MALDI-TOF;
- 2) Determinar o tipo sorológico das amostras de GBS;
- 3) Determinar a susceptibilidade das amostras aos antimicrobianos.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Amostras bacterianas**

As amostras incluídas neste trabalho estão depositadas na Coleção de Pesquisa do Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica (LIMM), do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da UFRJ. Esta coleção de conveniência é formada por amostras de GBS cedidas por diferentes laboratórios clínicos particulares, todas isoladas de quadros de infecção urinária no período de janeiro de 2020 a agosto de 2022, no Rio de Janeiro com contagens de unidades formadoras de colônias consideradas significativas de pacientes masculinos e femininos. Os resultados da identificação dos microrganismos foram liberados pelo laboratório clínico diretamente ao médico assistente que solicitou o exame e só em seguida, a amostra foi encaminhada para o LIMM.

Após a chegada em nosso laboratório, as amostras foram avaliadas quanto a sua pureza através de semeadura em placas contendo meio de ágar sangue [base *Tryptone Soy Agar* (Oxoid, Inglaterra) adicionado de 5% de sangue desfibrinado de carneiro] e incubação a 37°C por 24h. As amostras chegaram ao LIMM em meio CHROMagar™ StrepB para verificar a presença de colônias típicas de GBS. As amostras que se apresentaram puras foram, então, conservadas através da preparação de uma suspensão densa em 1mL de caldo *Tryptone Soy Broth* (TSB, Oxoid, Inglaterra) contendo 20% de glicerol (Merck, Alemanha), a qual foi congelada a -20°C, em freezer.

A partir deste estoque foram preparados os cultivos recentes em ágar sangue para estudar as características fenotípicas conforme os objetivos descritos para este estudo.

### **4.2 Caracterização fenotípica de *S. agalactiae***

#### **4.2.1 Características coloniais e hemolíticas**

A partir dos tubos estoque, uma alíquota das amostras foi semeada, por estrias, em placas com meio de ágar sangue. Em seguida, várias perfurações (*stabs*) foram realizadas na zona de semeadura para estudar a ação hemolítica das amostras na profundidade do meio de cultura e as placas serão incubadas por 24h a 35°C.

As colônias de GBS, cujo tamanho pode variar entre colônias médias e até puntiformes apresentam coloração translúcida/esbranquiçada com um pequeno halo de beta-hemólise ao seu redor, que é uma característica importante a ser observada em amostras provenientes de infecções em seres humanos. A hemólise em profundidade é também de pequena intensidade e característica para essa espécie.

#### **4.2.2 Coloração de Gram**

Consiste na diferenciação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, segundo suas características morfo-tintoriais identificadas após a coloração de Gram. A parede celular das bactérias pode estar presente em diferentes quantidades de camadas que podem influenciar na sua coloração pelo método de Gram, formando dois grandes grupos, as bactérias Gram-positivas e das bactérias Gram-negativas.

No caso de GBS, trata-se de uma bactéria em forma de coco, Gram-positivo, que absorve o cristal violeta e tem dificuldade de eliminá-lo no processo de descoloração com solução álcool-cetona por ter uma camada espessa de peptidoglicana, e com isso sua observação microscópica na lâmina apresenta coloração roxa. A realização dessa coloração se inicia pela preparação de um esfregaço em lâminas de vidro, o qual é, em seguida, fixado pelo calor. Para a coloração, cobre-se totalmente a lâmina com cristal violeta durante 1 min. Em seguida a lâmina é lavada cuidadosamente em água e o esfregaço recoberto com solução de Lugol, também por 1min. Após nova lavagem a lâmina com o esfregaço é submetida, então, ao descoramento com a mistura de álcool-acetona ou álcool por 30s. Novamente a lâmina é lavada cuidadosamente com água e a última etapa da coloração é realizada através da adição de solução de fucsina por 30s. Ao término desta etapa a lâmina é lavada com água destilada e seca.

Os esfregaços corados foram visualizados em microscópio óptico com aumento total de 1000x após a deposição de uma gota do óleo de imersão sobre o esfregaço. A presença de cocos Gram-positivos dispostos na forma de cadeia, dois a dois ou mesmo isolados é típica de microrganismos do gênero *Streptococcus*.



### 4.2.3 Teste de CAMP

A identificação das amostras foi confirmada presuntivamente através do teste do fator CAMP, que consiste na semeadura vertical, no centro de uma placa de ágar sangue, de uma cepa padrão de *S. aureus* (ATCC 25923), que é produtora de  $\beta$ -hemolisina. Logo após, semeou-se as amostras teste perpendicularmente à estria central, tomando-se o cuidado de deixar uma distância de aproximadamente 3mm entre a estria central e a estria teste. Após 24h de incubação a 35°C, foi possível observar a formação ou não de seta na região entre às duas estrias. As amostras positivas para GBS produzem o fator CAMP que reagirá de forma sinérgica com a  $\beta$ -hemolisina produzida pelo *S. aureus*, a qual hidrolisa a esfingomielina em ceramida, tornando os eritrócitos sensíveis à ação lítica do fator CAMP, formando, assim, um halo em forma de ponta de seta nestas amostras (Koneman *et al.*, 2008).

### 4.2.4 Teste de hidrólise do hipurato de sódio

O teste da hidrólise do hipurato foi feito segundo Hwang e Ederer (1975). Para isso, foram adicionados 400  $\mu$ l de solução do hipurato de sódio a 1% em tubos estéreis e, em seguida, foi inoculada uma alçada da amostra teste formando uma suspensão homogênea. Os tubos foram incubados na estufa por 2h a 35°C e, após esse período, foram adicionados de 200  $\mu$ l de solução ninidrina (3,5g de ninidrina em 100 mL de uma mistura 1:1 de acetona e butanol), sendo, em seguida, novamente incubados por 10 min. As amostras produtoras da enzima hipuricase quebram a molécula de hipurato gerando, como um dos produtos finais, a glicina que na presença da ninidrina é desaminada formando um precipitado roxo, sendo, então, um resultado presuntivo positivo para GBS. Para o teste foi incluída amostra controle positivo *S. agalactiae* SS-615 e como controle negativo foi utilizada a cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

### 4.2.5 Identificação por MALDI-TOF MS

A confirmação da identificação das amostras foi realizada utilizando-se a metodologia de MALDI-TOF MS (do inglês “*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time Of Flight Mass Spectrometry*”). As colônias dos microrganismos (crescimento recente) foram aplicadas em uma placa de aço inoxidável polido do equipamento com auxílio de um palito de madeira. Em seguida, foi acrescentado 1 $\mu$ L de ácido fórmico e, após secagem, foi acrescentado 1 $\mu$ L de

solução matriz HCCA (ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico). Quando inseridas no equipamento, as amostras são submetidas a um feixe de laser, ionizando as proteínas, geralmente as ribossomais (entre 2 e 20 KDa), que percorrem um tubo vertical dentro do equipamento, e o tempo que as partículas levam para percorrer o tubo é mensurado que é denominado de tempo de voo. Através das análises dessas informações são gerados espectros com auxílio do espectrômetro de massa Microflex LT (Bruker Daltonics, Alemanha), utilizando o software Flex Control (Bruker Daltonics, Alemanha) no intervalo de 2.000 a 20.000  $m/z$ , os quais são comparados com um banco de dados. O resultado apresenta-se através de escores de confiabilidade, onde valores  $\leq 1,69$  são considerados não confiáveis, escores entre 1,70 a 1,99 indicam identificação provável de gênero, escores entre 2,00 e 2,29 indicam identificação segura de gênero e provável de espécie e, por fim, escores acima de 2,30 até 3,00 indicam alta probabilidade na identificação da espécie (Bizzini & Greub, 2010; Pasternak, 2012).

#### **4.2.6 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos**

Este teste foi realizado de acordo com instruções contidas no manual do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2022), através da técnica de disco difusão. O inóculo foi preparado com a suspensão de um crescimento recente da amostra em agar sangue, em salina fisiológica estéril, para uma turbidez comparável com a escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Essa suspensão foi semeada com auxílio de um swab estéril, de forma confluenta, na superfície do meio agar Müeller Hinton acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro (MHS). Em seguida, foram depositados na superfície do meio, com auxílio de uma pinça estéril, os discos de antimicrobianos (Laborclin). As placas foram incubadas por até 24h, a  $35^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  em atmosfera enriquecida de 5%  $\text{CO}_2$ . Os antimicrobianos testados com suas respectivas concentrações foram: clindamicina (2 $\mu\text{g}$ ), eritromicina (15 $\mu\text{g}$ ), levofloxacina (5 $\mu\text{g}$ ), penicilina (10 $\mu\text{g}$ ), tetraciclina (30 $\mu\text{g}$ ) e vancomicina (30 $\mu\text{g}$ ). A interpretação dos resultados foi realizada de acordo com os critérios descritos no CLSI (2022). A cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619 foi utilizada para fins de controle de qualidade do teste.

O fenótipo  $\text{MLS}_B$  (resistência aos macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B) foi avaliado pelo método de disco aproximação (teste D), segundo Seppälä e colaboradores (1993). Para isso, após o ajuste da suspensão bacteriana de acordo com a escala 0,5 de Mc Farland e sua semeadura em MHS, os discos de eritromicina e clindamicina foram colocados a uma

distância de 12mm do centro de um disco ao outro. Após a incubação por 24h à 37°C, os halos de inibição foram interpretados de acordo com os critérios do CLSI (2022). O fenótipo  $MLS_B$  induzido ocorre quando há a resistência à eritromicina e halo de sensibilidade à clindamicina com achatamento do halo em forma da letra “D”, indicando que a presença da eritromicina induziu a resistência à clindamicina. O  $MLS_B$  constitutivo é definido quando ocorre a resistência à eritromicina e clindamicina. O fenótipo M, por sua vez, é definido quando ocorre a resistência somente ao macrolídeo e sensibilidade à clindamicina e o fenótipo L é quando ocorre resistência somente à lincosamida.

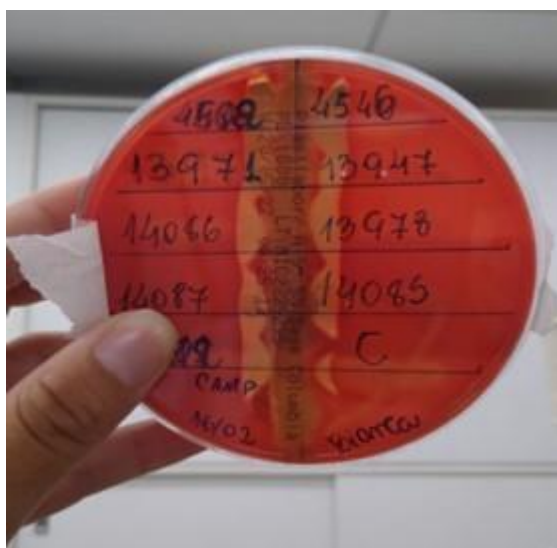
#### **4.2.7 Sorotipificação das amostras**

A determinação do tipo capsular foi realizada utilizando-se o método de aglutinação em látex, com auxílio do kit Immulex Strep-B (SSI Diagnóstica, Dinamarca), de acordo com as instruções do fabricante. Todos os 10 sorotipos foram pesquisados (Ia, Ib-IX). Para isso, no cartão de reação do Immulex Strep-B foi aplicada uma gota do reativo composto do anticorpo tipo específico adsorvido a partículas de látex, e o crescimento bacteriano recente retirado de uma placa de ágar sangue foi homogeneizado na gota do reativo, sob o cartão de reação. Em seguida o cartão foi submetido cuidadosamente a movimentos circulares. Uma reação foi considerada positiva quando houve aglutinação das partículas do reativo dentro de 30s. Amostras de referência dos diferentes tipos capsulares (Ia, Ib e II a X), foram utilizadas para fins de controle do teste.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Teste fenotípicos para identificação presuntiva

Informações referentes às 37 amostras incluídas no presente estudo estão descritas no **Anexo 1**. Todas as amostras apresentaram a beta-hemólise característica de *S. agalactiae* em ágar sangue e, no meio CHROMagar™ StrepB, formaram colônias rosas que é indicativo de GBS. As amostras suspeitas foram submetidas à coloração de Gram para observação das características morfo-tintoriais, onde todas se apresentaram como Gram positivas em formato de cocos dispostos em cadeia ou pares. Ainda, todas as amostras foram positivas para o teste do fator CAMP, como demonstrado na **Figura 1** abaixo, e todas foram capazes de hidrolisar o hipurato de sódio, sendo, assim, produtoras da enzima hipuricase.



**Figura 1** - Teste de CAMP realizado em 16/02/2022- Imagem autoral

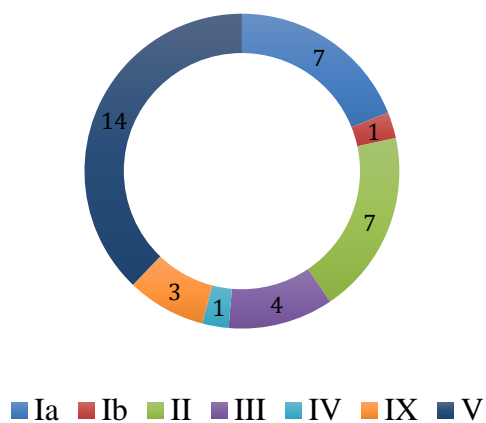
### 5.2 Confirmação da identificação

Todas as amostras que foram submetidas a identificação por MALDI-TOF MS foram classificadas como pertencentes a espécie *S. agalactiae*. A confirmação da identificação ocorreu de acordo com os escores dos espectros gerados pelo software MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Alemanha), onde todas as amostras obtiveram uma identificação confiável ao nível de espécie (escore  $\geq 2,0$ ).

### 5.3 Determinação do tipo capsular

A determinação do tipo capsular por meio do método de aglutinação em látex foi realizada para todas as amostras analisadas (**Figura 2**), sendo que todas mostraram uma reação positiva.

O sorotipo mais frequente foi o V (37,8%), seguido do Ia e II (19% cada), III (10,8%), IX (8%), Ib e IV (2,7% cada) (**Figura 2**).

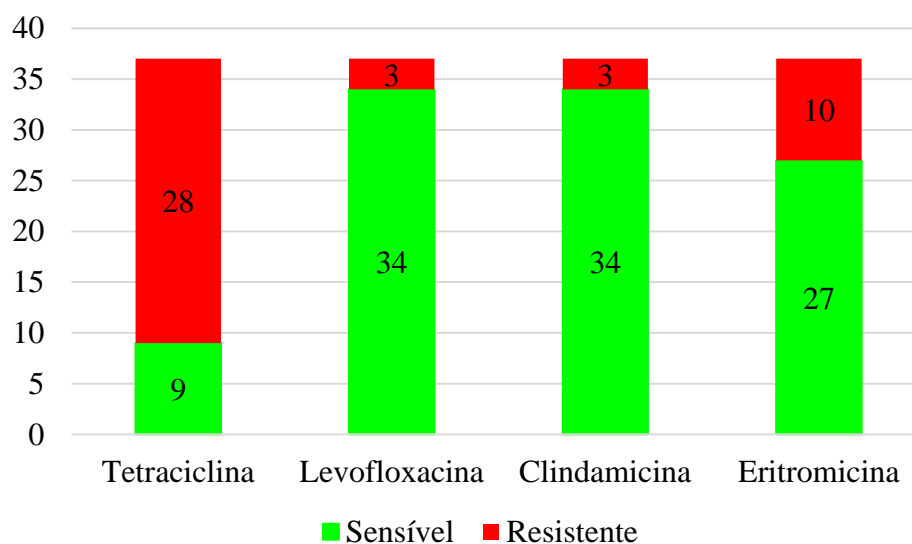


**Figura 2** - Distribuição dos tipos capsulares, 37 amostras testadas de GBS, isoladas de urina, através da aglutinação em látex utilizando o kit Immulex Strep-B (SSI Diagnóstica, Dinamarca).

## 5.4 Susceptibilidade aos antimicrobianos

Os resultados observados para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos estão expressos na **Figura 3**. Todas as amostras foram susceptíveis à penicilina e vancomicina. Percentuais significativos de não susceptibilidade foram observados para tetraciclina (75,7%), eritromicina (27%) e clindamicina (8%). Apesar de um percentual de não susceptibilidade mais discreto, das três amostras (8%) resistentes a levofloxacina, duas apresentaram halo zero de inibição.

Quanto ao fenótipo MLSb, entre as amostras resistentes à eritromicina (n=10), oito apresentaram o fenótipo M e duas o fenótipo iMLS<sub>B</sub>. O fenótipo L foi observado em uma amostra.



**Figura 3** Susceptibilidade aos antimicrobianos entre as 37 amostras testadas de GBS isoladas de urina. Todas as amostras foram suscetíveis à penicilina e vancomicina.

**Tabela 1** - Perfis de susceptibilidade a eritromicina (Eri), clindamicina (Cli) e tetraciclina (Tet) entre as 37 amostras de *Streptococcus agalactiae* incluídas no presente estudo, em relação aos sorotipos.

Eri	Cli	Tet	Total de amostras (%)	Sorotipos
S	S	R	19 (51,3%)	<b>Ia (1); Ib (1); II (5); III (1); V (9); IX (2)</b>
R	S	R	8 (21,6%)	<b>Ia (5); III (1); V (2)</b>
S	S	S	7 (19%)	<b>II (1); V (3); III (2); IV (1)</b>
R	R	R	1 (2,7%)	<b>Ia (1)</b>
S	R	S	1 (2,7%)	<b>IX (1)</b>
R	R	S	1 (2,7%)	<b>II (1)</b>

R, resistente; S, sensível

## 6 DISCUSSÃO

*Streptococcus agalactiae* inicialmente foi reconhecido como o principal patógeno causador de mastite em animais leiteiros levando a perdas econômicas na agropecuária (Cheng & Han, 2021). Esse microrganismo também é um importante agente em infecções em humanos, principalmente em mulheres grávidas e neonatos podendo causar casos de infecções urinária, complicações no puerpério, meningite, sepse e pneumonias em neonatos (Furfaro, Chang & Payne, 2018). Além disso, *S. agalactiae* também pode ser encontrado em adultos não gestantes em sítios como o trato respiratório superior e geniturinário, sendo normalmente comensal, mas podendo atuar como agente infeccioso (Raabe & Shane, 2019).

Dentre as infecções em adultos não gestantes, GBS também pode causar infecções no trato urinário. Estima-se que o GBS cause aproximadamente 1-2% de todas as ITUs. Estudos envolvendo populações específicas, como os idosos, GBS pode ser encontrado causando ITU em até 39% dos indivíduos. Bacteriúria assintomática e ITU causadas por GBS são comuns não só entre os idosos, mas também em grávidas, diabéticos e indivíduos imunocomprometidos, bem como naqueles com anormalidades urológicas pré-existentes, grupos com maior risco de pielonefrite ascendente que pode progredir para bacteremia e/ou ITUs complicadas (Kline & Lewis, 2016).

No presente estudo, todas as amostras avaliadas quanto ao teste da produção do fator CAMP e da hidrólise do hipurato de sódio obtiveram resultado positivo esperado, corroborando com resultados de estudos antigos bem estabelecidos (Phillips, Tapsall e Smith, 1980). Apesar desses testes quando usados isoladamente não serem confiáveis no que diz respeito a identificação da espécie, os resultados positivos combinados entre os testes geram maior confiabilidade, além de serem de baixo custo quando comparados a outras técnicas genotípicas (Rosa-Fraile e Spellerberg, 2017). Para a confirmação da identificação foi utilizado o MALDI-TOF MS que gera espectros que são comparados com o banco de dados e fornecem escores de confiabilidade. O MALDI-TOF MS é um método de identificação rápida para espécies bacterianas clinicamente importantes, baseada na detecção de biomarcadores altamente conservados intraespécie, tais como as proteínas ribossômicas (Wieser et al., 2012). E em relação a identificação de *S. agalactiae*, diversos estudos demonstram que o MALDI-TOF os classifica na espécie de forma correta. Estudos que utilizaram sorotipos diferentes,



demonstraram que não houve divergência na classificação (Assis *et al.*, 2017; Ábrók *et al.*, 2019; Rothen *et al.*, 2020).

A distribuição dos sorotipos de GBS pode variar de acordo com o país ou a região geográfica analisada, sendo o sorotipo Ia o mais frequentemente relatado nas Américas (Ippolito *et al.*, 2010). Nos EUA o sorotipo mais frequente é o Ia seguido do V, II, III, Ib e IV (McGee *et al.*, 2021). Na Itália o sorotipo III é o mais comum, seguido do V, Ia, Ib, II e IV (Genovese *et al.*, 2020). Na África o sorotipo V é o mais frequente, seguido do III, Ia, Ib e II (Gizachew *et al.*, 2019). As amostras de urina do presente estudo pertencem a 7 sorotipos capsulares distintos: Ia, Ib, II, III, IV, V e IX. O sorotipo mais frequentemente detectado foi o sorotipo V (37,8%), seguido do Ia e II (19% cada), III (10,8%), IX (8%), IV e Ib (2,7% cada). Tais resultados diferem de achados no Brasil, que habitualmente relatam a alta frequência do sorotipo Ia, seguida dos tipos II, III ou V, e com uma menor frequência dos tipos Ib e IV (Corrêa *et al.*, 2011; Botelho *et al.*, 2018a; Kfoury *et al.*, 2021; Costa *et al.*, 2022). Estudos recentes vêm relatando mudanças significativas nos perfis de sorotipos, onde o sorotipo III parece estar diminuindo sua frequência enquanto o V e o Ib vêm aumentando (Soares *et al.*, 2013; Botelho *et al.*, 2018a; Shipitsyna *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2022). Além disso, o sorotipo V é relatado como o mais comumente encontrado em infecções em adultos não gestantes (Yoon *et al.*, 2015; Bianchi *et al.*, 2020). Esses dados podem sugerir o porquê da maior frequência do sorotipo V neste estudo. Além disso, trabalhos realizados na Ásia e África relatam frequentemente os sorotipos VI, VII e VIII, que não foram detectados em nosso estudo (Hirai *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2020). Num estudo realizado nos EUA, onde amostras de GBS isoladas de urina foram investigadas quanto a distribuição de sorotipos, foi possível observar exatamente a mesma distribuição no que se refere a frequência de sorotipos entre as amostras estudadas deste estudo. De forma interessante, da mesma maneira que neste estudo amostras consideradas como não tipáveis também não foram detectadas (Ulett *et al.* 2013).

Assim como comumente reportado ao redor do mundo, todas as amostras avaliadas apresentaram sensibilidade a penicilina e vancomicina, estando, portanto, de acordo com a literatura, uma vez que, a resistência para essas classes de antimicrobianos é rara (Metcalf *et al.*, 2017). Para os pacientes que são alérgicos aos beta-lactâmicos, são recomendados antimicrobianos da classe dos macrolídeos e lincosaminas, entretanto, de acordo com dados na literatura a resistência a essas classes vem sendo reportada ao longo dos anos (Raabe &

Shane, 2019; Hayes, O'Halloran & Cotter, 2020). Neste estudo 27% das amostras apresentaram resistência à eritromicina, o que foi de encontro ao reportado por estudos realizados no Brasil, onde habitualmente são relatadas taxas de resistência de 4 a 25% (Barros, 2021). Dessa forma, nossos resultados estão mais distantes de estudos realizados nos EUA, que apresentaram níveis de resistência a eritromicina de 54,8% em amostras encontradas em adultos (Watkins *et al.*, 2019; Hayes, O'Halloran e Cotter, 2020), e na China, que relatam taxas de 74,1% a 92,5% (Guo *et al.*, 2017; Ding *et al.*, 2020). Em relação à clindamicina, a taxa de 8% observada neste estudo está de acordo com o que normalmente é relatado em estudos brasileiros, que apontam taxas de 1,9 a 18,8% de resistência. Apesar disso, estudos em outras localidades reportam taxas maiores de resistência à clindamicina, como em torno de 50% nos EUA (Watkins *et al.*, 2019; Hayes, O'Halloran e Cotter, 2020) e 64,2% a 87,5% na China (Guo *et al.*, 2017; Ding *et al.*, 2020). Dentre as amostras com fenótipos MLS<sub>B</sub> induzido (2) observadas neste estudo, uma era pertencente ao sorotipo V e outra ao sorotipo III. Essa associação corrobora com achados no Brasil onde o sorotipo V predomina entre as amostras com a resistência MLS<sub>B</sub> (Dutra *et al.*, 2014; Khodaei *et al.*, 2018; Barros, 2021). Além disso, outros estudos realizados no Brasil, Portugal, Coreia do Sul e Itália também mostraram a associação do tipo capsular V com a resistência aos macrolídeos (Martins *et al.*, 2012; Pinto *et al.*, 2013; Otaguiri *et al.*, 2013; Yoon *et al.*, 2015; Simoni *et al.*, 2018).

Em relação à tetraciclina, sabe-se que a maioria das amostras de GBS de humanos são resistentes à tetraciclina, e isso ocorre devido a aquisição de elementos genéticos móveis e à expansão desses clones que levou ao surgimento de amostras mais adaptadas para causar infecções em humanos (Metcalf *et al.*, 2017; Hayes, O'Halloran e Cotter, 2020). Assim, foi observada neste estudo uma alta taxa de resistência à tetraciclina (75,7%), corroborando com dados achados na literatura, uma vez que a taxa de resistência à tetraciclina em humanos varia de 75% a 100% no Brasil (Barros, 2021). A levofloxacina é recomendada pelo FDA como droga de tratamento para infecções do trato urinário (Lipsky *et al.*, 2010; Xiong *et al.*, 2020). Porém a crescente resistência às fluoroquinolonas que vem sendo observada, tem preocupado pesquisadores e clínicos (Shigehara *et al.*, 2008; Xiong *et al.*, 2020). Por isso, o estudo da resistência a essa quinolona é muito importante para a escolha do tratamento desses pacientes. Nesse estudo, observou-se taxa de resistência de 8% para levofloxacina, que apesar de rara, já foi relatada no Brasil em níveis de 1 a 7,1% (Barros, 2021). Assim, nosso estudo mostra que a

taxa de resistência à levofloxacina está de acordo com o mais alto nível já reportado.

## 7 CONCLUSÃO

O presente estudo teve como conclusões:

- ❖ As amostras incluídas no estudo foram identificadas ao nível de espécie por métodos fenotípicos e pela técnica de MALDI-TOF;
- ❖ A determinação do tipo sorológico mostrou a prevalência do sorotipo V (37,8%), seguida dos sorotipos Ia e II (19% cada), III (10,8%), IX (8%) e IV e Ib (2,7% cada);
- ❖ O perfil de susceptibilidade demonstrou amostras 100% suscetíveis à penicilina e vancomicina, enquanto a resistência foi de 75,7% para a tetraciclina, 27% para eritromicina, 8% para clindamicina e 8% para levofloxacina.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ábrók, Marianna, et al. "Evaluation of the results of Group B Streptococcus screening by MALDI-TOF MS among pregnant women in a Hungarian Hospital." *Pathogens* 9.1 .2019. 1.
- Alhazmi, A., Hurteau, D. e Tyrrell, G. J. 2016. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in Alberta. Canada, from 2003 to 2013. *J. Clin. Microbiol.* 54, 1774–1781.
- Amaral, M. M., Coelho, L. R., Flores, R. P., Souza, R. R., Silva-Carvalho, M. C., Teixeira, L. A., Ferreira-Carvalho, B. T., e Figueiredo, A. M. S. 2005. The predominant variant of the brazilian epidemic clonal complex of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* has an enhanced ability to produce biofilm and to adhere to and invade airway epithelial cells. *J. Infect.* 192 (5), 801–810.
- Allen, Victoria M., et al. "Management of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy." *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* 34.5 (2012): 482-486.
- Amin, A., Y. M. Abdulrazzaq e S. Uduman. 2002. Group B streptococcal serotype distribution of isolates from colonized pregnant women at the time of delivery in United Arab Emirates. *J. Infect.*, 45: 42-46.
- Arias, B., Kovacec, V., Vigliarolo, L., Suárez, M., Tersigni, C., Müller, L., Lopardo, H., Bonofiglio, L. e Mollerach, M. 2019 Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus agalactiae* invasive isolates recovered in Argentina. *Microb. Drug Resist.*, 25: 739-743.
- Assis, Gabriella BN, et al. "Use of MALDI-TOF mass spectrometry for the fast identification of gram-positive fish pathogens." *Frontiers in Microbiology* 8 . 2017. 1492.
- Barcaite, E., Bartusevicius, A., Tameliene, R., Kliucinskas, M.; Maleckiene, L. e Nadisauskiene, R. 2008. Prevalence of maternal group B streptococcal colonization in European countries. *Acta Obstet Gynecol Scand* 87: 260-271.
- Barros, R.R., Kegele, F.C., Paula, G.R., Brito, M.A. e Duarte, R.S. 2012. Molecular characterization of the first fluoroquinolone resistant strains of *Streptococcus agalactiae* isolated in Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, 16: 476-478.
- Barros, Rosana Rocha, et al. "Streptococcus agalactiae prevalent capsular types and impact of capsular-based vaccines in pregnant women population in Rio de Janeiro." .2021.
- Beckmann, C.; Waggoner, J. D.; Harris, T. O.; Tamura, G. S. & Rubens, C. E. 2002. Identification of novel adhesins from group B streptococci by use of phage display reveals that C5a peptidase mediates fibronectin binding. *Infect. Immun.*, 70: 2869–2876.
- Bellais, S., Six, A., Fouet, A., Longo, M., Dmytruk, N., Glaser, P., et al. 2012. Capsular switching in group B *Streptococcus* CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development. *J. Infect. Dis.*, 206:1745–1752.
- Belokrysenko, S.S., Pavlova, M.V. e Kuksiuk, P.P. 2007 Antimicrobial drug susceptibility of 365 *Streptococcus agalactiae* strains isolated in 1999-2006. *Antibiot. Khimioter.*, 52: 17-20.
- Benchetrit, L.C., Fracalanza, S.E.L., Peregrino, H., Camelo, A.A. e Sanches, L.A.L.R. 1982. Carriage of *Streptococcus agalactiae* in women and neonates and distribution of serological types: a study in Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, 15: 787-790.
- Berner, R.; Ruess, M.; Bereswill, S. & Brandis, M. 2002. Polymorphisms in the cell wall-spanning domain of the C protein b-antigen in clinical *Streptococcus agalactiae* isolates are caused by genetic instability of repeating DNA sequences. *Pediatr. Res.*, 51: 106–111.
- Betriu, C., Gomes, M., Sanchez, A., Cruceyra, A., Romero, J. e Picazo, J.J. 1994. Antibiotic resistance and penicilin tolerance in clinical isolates of group B streptococci. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38: 2183-2186.
- Bianchi-Jassir, Fiorella, et al. "Systematic review of Group B Streptococcal capsular types, sequence types and surface proteins as potential vaccine candidates." *Vaccine* 38.43 .2020. 6682-6694.

- Bishop, E. J., Shilton, C., Benedict, S., Kong, F., Gilbert, G. L., Gal, D., Godoy, D., Spratt, B. G. e Currie, B. J. 2007. Necrotizing fasciitis in captive juvenile *Crocodylus porosus* caused by *Streptococcus agalactiae*: an outbreak and review of the animal and human literature. *Epidemiol.Infect.*, 135: 1248–1255.
- Bizzini, A., et al. "Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory." *Journal of clinical microbiology* 48.5 .2010. 1549-1554.
- Bolduc, G. R.; Baron, M. J.; Gravekamp, C.; Lachenauer, C. S. & Madoff, L. C. 2002. The alpha C protein mediates internalization of group B *Streptococcus* within human cervical epithelial cells. *Cell Microbiol.*, 4: 751-758.
- Boonyayatra, P., S. P., Nakharuthai, P., Chaisri, W., 2016. Antimicrobial resistance of biofilm-forming *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis. *J. Veter. Sci. & Technol.*, 7: 374.
- Borchardt, S.M., Debusscher, J.H., Tallman, P.A., Manning, S.D., Marrs, C.F., Kurzynski, T.A. e Foxman, B. 2006. Frequency of antimicrobial resistance among invasive and colonizing Group B Streptococcal isolates. *BMC Infect. Dis.*, 6, 57-64. Borges, S., Silva, J. e Teixeira, P. 2012. Survival and biofilm formation by Group B streptococci in simulated vaginal fluid at diferente pHs. *AntonieVan Leeuwenhoek* 101, 677–682.
- Botelho, AC N., Oliveira J. G., Damasco, A. P., Santos, K. T., Ferreira, A. F., Rocha, G. T., Marinho, P, S., Bornia, R. B. G., Pinto, T. C. A., Fracalanza, S, E, L. e Teixeira, L, M. 2018. *Streptococcus agalactiae* carriage among pregnant women living in Rio de Janeiro, Brazil, over a period of eight years. *Plos One*, 13(5):e0196925.
- Carvalho, A. S. S., Mendes, B.F., De Faria, R. S.A., Perecmanis, S. e Novais, E.P.F. 2021. Estudo e caracterização de microrganismos causadores de mastite bovina no DF e entorno, sua resistência aos antimicrobianos e os fatores de risco para a ocorrência da doença. *Braz. J. Develop*, 7: 86772-86797.
- Centers for Diseases Control and Prevention About Clindamycin-resistant Group B *Streptococcus* Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Emerging Zoonotic and Infectious Diseases (U.S.). Division of Healthcare Quality Promotion. Antibiotic Resistance Coordination and Strategy Unit.
- Centers for Diseases Control and Prevention. 2010. Prevention of perinatal group B streptococcal disease, revised guidelines from CDC. *M.M.W.R.*, 59, 1-23.
- Chang, Y. C., Olson, J., Beasley, F. C., Tung, C., Zhang, J., Crocker, P. R., et al. 2014a. Group B *Streptococcus* engages an inhibitory Siglec through sialic acid mimicry to blunt innate immune and inflammatory responses in vivo. *PLoS Pathog.* ,10:e1003846.
- Chang, Y. C., Olson, J., Louie, A., Crocker, P. R., Varki, A. e Nizet, V. 2014b. Role of macrophage sialoadhesin in host defense against the sialylated pathogen group B *Streptococcus*. *J. Mol. Med.*, 92, 951–959.
- Chen, V. L., Avci, F. Y. e Kasper, D. L. 2013. A maternal vaccine against group B *Streptococcus*: past, present, and future. *Vaccine* , 31(Suppl. 4): D13–D19.
- Cheng, Q., Stafslie, D., Purushothaman, S. S., e Cleary, P. 2002. The group B streptococcal C5a peptidase is both a specific protease and an invasin. *Infect. Immun.*,70: 2408–2413.
- Chen, Peng, et al. "Characterization of *Streptococcus lutetiensis* isolated from clinical mastitis of dairy cows." *Journal of Dairy Science* 104.1 (2021): 702-714.
- CLSI, 2022 CLSI. M100-S24, Wayne P.A.USA, 2022.
- Collin, S.M., Shetty, N., Guy, R., Nyaga, V.N., Bull, A., Richards, M.J., van der Kooi, T.I.I, Koek, M.B.G., De Almeida, M., Roberts, S.A., e Lamagni, T. 2019. Group B *Streptococcus* in surgical site and non-invasive bacterial infections worldwide: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, 83: 116-129.
- Côrrea, A. B.; da Silva. L. G.; Pinto. T. de C.; de Oliveira. I. C.; Fernandes. F.G.; da Costa. N. S.; de Mattos. M. C.; Fracalanza. S. E. e Benchetrit. L. C. 2011. The genetic diversity and phenotypic characterisation of *Streptococcus agalactiae* isolates from Rio de Janeiro, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 106: 1002-1006.

- Correia, C.; Costa, E. Peres, A. et al. 2007. Etiologia das infecções do trato urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. *Acta Médica Portuguesa*. 543-549.
- Costa, Adriana Lima dos Reis, et al. "Prevalência de colonização por estreptococos do grupo B em gestantes atendidas em maternidade pública da região Nordeste do Brasil." *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 30 .2008. 274-280.
- Costa, M. I., et al. "Clinical profile and microbiological aetiology diagnosis in adult patients hospitalized with community-acquired pneumonia." *Pulmonology* 28.5 .2022. 358-367.
- Curtis, S. N. e Krause, R. M. 1964. Antigenic relationships between groups B and G streptococci. *J. Exp. Med.*, 120:629-637.
- Davies, H. D., Miller, M. A. , Faro, S., Gregson, D., Kehl, S. C. , Jordan, J. A. 2004. Multicenter study of a rapid molecular-based assay for the diagnosis of group B *Streptococcus* colonization in pregnant women. *Clin. Infect. Dis.*, 39: 1129-1135.
- De-Paris, Fernanda, et al. "Group B Streptococcus detection: comparison of PCR assay and culture as a screening method for pregnant women." *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 15.4 (2011): 323-327.
- D'Urso de Souza Mendes, C. e A.M.S. 2013. Pipeline of known chemical classes of antibiotics. *Antibiotics*, 2: 500-534.
- Dhanoa, A., Karunakaran, R e Puthuchery, S. D. 2010. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of group B streptococci in pregnant women. Published online by Cambridge University Press: 05 November 2009.
- Diedrick, M. J., Flores, A. E., Hillier, S. L., Creti, R., and Ferrieri, P.2010. Clonal analysis of colonizing group B *Streptococcus*, serotype IV, an emerging pathogen in the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 48, 3100–3104.
- Ding, Yijun, et al. "Systematic review and meta-analyses of incidence for group B Streptococcus disease in infants and antimicrobial resistance, China." *Emerging Infectious Diseases* 26.11 .2020.2651.
- Doran, K. S., Engelson, E. J. e Nizet V. 2005. Blood-brain barrier invasion by group B *Streptococcus* depends upon proper cell-surface anchoring of lipoteichoic acid. *J.Clin. Invest.*, 9: 2499-2507.
- Doran, K.S., Liu G.Y. e Nizet, V. 2003. Group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin activates neutrophil signaling pathways in brain endothelium and contributes to development of meningitis. *J. Clin. Invest.* 112, 736-744.
- Doran, K. S.; Chang, J. C.; Benoit, V. M.; Eckmann, L. e Nizet, V. 2002. Group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin promotes invasion of human lung epithelial cells and the release of interleukin-8. *J Infect Dis.* 185, 196-203.
- Dramsi, S., Caliot, E., Bonne, I., Guadagnini, S., Prevost, M. C., Kojadinovic, M., Lalioui, L., Poyart, C. e Trieu-Cuot, P. 2006. Assembly and role of pili in group B streptococci. *Mol. Microbiol.* 60,1401–1414.
- Duarte, R. S., Bellei, B. C., Miranda, O. P., Brito, M. A. e Teixeira, L. M. 2005. Distribution of antimicrobial resistance and virulence-related genes among Brazilian group B streptococci recovered from bovine and human sources. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49: 97-103.
- Dutra, V. G., V. M. Alves, A. N. Olendzki, C. A. Dias, A. F. Bastos, G. O. Santos, E. L. Amorin, Sousa M,AB., Santos, M., Ribeiro, P, CS., Fontes, C, F., Andrey, M., Magalhães, K., Araujo, A, A., Paffadore, L. F.,Marconi, C., Murta, E. FC., Fernandes, P. C., Raddi, M. SG., Marinho, P. S., Bornia, R. BG., Palmeiro, J.K., Dalla-Costa, L. M., Pinto, T. CA., Botelho, A. C. N., Teixeira, L. M. e Fracalanza, S. E. L. 2014. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. *BMC Infect. Dis.* ,14: 323.
- Ekelund, K., Slotved, H. C., Nielsen, H. U., Kaltoft, M. S. e Konradsen, H. B. 2003. Emergence of invasive serotype VIII group B streptococcal infections in Denmark. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 4442–4444.
- Fabbrini, M., Rigat, F., C. Rinaudo, D., Passalacqua, I., Khacheh, S., Creti,R., Baldassarri, L., Carboni, F., Anderloni,G. e Rosini, R. 2016. The protective value of maternal group B *Streptococcus* antibodies:

quantitative and functional analysis of naturally acquired responses to capsular polysaccharides and pilus proteins in European maternal sera. *Clin. Infect. Dis.* 63, 746–753.

Facone D, Guerriero L, Mendez E. et al. 2010. Fluoroquinolone resistant *Streptococcus agalactiae* isolates from Argentina. *Rev. Argent Microbiol*, 42: 203–207.

Ferjani, A., Ben Abdallah, H., Ben Saida, N., Gozzi, C. e Boukadida, J. 2006. Vaginal colonization of the *Streptococcus agalactiae* in pregnant woman in Tunisia: risk factors and susceptibility of isolates to antibiotics. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 99: 99-102.

Ferrieri, P., Lynfield, R., Creti, R. e Flores, A. E. 2013. Serotype IV and invasive group B *Streptococcus* disease in neonates. Minnesota, USA, 2000-2010. *Emerg. Infect. Dis.*, 19: 551–558.

Feuerschuette, Otto May, et al. "Performance of RT-PCR in the detection of *Streptococcus agalactiae* in the anogenital tract of pregnant women." *Archives of gynecology and obstetrics* 286 .2012. 1437-1442.

Flores A. R., Galloway-Peña J., Sahasrabhojane P., Saldaña M., Yao H., Su X., et al. 2015. Sequence Type 1 Group B *Streptococcus*, An Emerging Cause of Invasive Disease in Adults, Evolves By Small Genetic Changes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 112:6431–6436.

Florindo, C., Damiao, V., Silvestre, I., Farinha, C., Rodrigues, F. e Nogueira, F. 2014. Epidemiological surveillance of colonising group B *Streptococcus* epidemiology in the Lisbon and Tagus Valley regions, Portugal (2005 to 2012): emergence of a new epidemic type IV/clonal complex 17 clone. *Euro. Surveill.*, 19: 20825.

Froeliger, E.H. e Fives-Taylor, P. 2001. *Streptococcus parasanguis* fimbria associated adhesin fap1 is required for biofilm formation. *Infect.Immun.*, 69: 2512–2519.

Fry, R.M. 1938. Fatal infections by haemolytic *Streptococcus* group B. *The Lancet* 1, 199-201.

Furfaro, Lucy L., Matthew S. Payne, and Barbara J. Chang. "Bacteriophage therapy: clinical trials and regulatory hurdles." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 8 .2018. 376.

Garland,S.M., Cottrill, E., Markowski, L., Pearce, C., Clifford, V., Ndisang, D., Kelly, N. e Daley,A. for the Australasian Group for Antimicrobial Resistance–GBS Resistance Study Group. 2011. Antimicrobial resistance in group B *Streptococcus*: the Australian experience. *J. Med. Microbiol.*, 60:230–235.

Genovese, Carlo, et al. "Streptococcus agalactiae in pregnant women: serotype and antimicrobial susceptibility patterns over five years in Eastern Sicily (Italy)." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 39.12 .2020. 2387-2396.

Gibbs, R.S., Schrag, S. e Schuchat, A. 2004. Perinatal infections due to group B Streptococci. *Obstet Gynecol.*, 104: 1062 – 1076.

Ginsburg, I. 2002. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation. *Lancet Infect. Dis.*, 2: 172-179.

Gizachew, Mucheye, et al. "Streptococcus agalactiae maternal colonization, antibiotic resistance and serotype profiles in Africa: a meta-analysis." *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 18 .2019. 1-14.

Guo, Lihong, et al. "Streptococcus mutans SpaP binds to RadD of *Fusobacterium nucleatum* ssp. polymorphum." *Molecular oral microbiology* 32.5 .2017.355-364.

Gutekunst H, Eikmanns B.J e Reinscheid D.J. 2004. The novel fibrinogen-binding protein FbsB promotes *Streptococcus agalactiae* invasion into epithelial cells. *Infect. Immun.*,72: 3495-3504.

Haddad J.M. e Fernandes DA. 2018. Infecção do trato urinário. São Paulo: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo), <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00437>.

Hacker, 2018. Polissacarídeo capsular do *Streptococcus agalactiae* como antígeno vacinal: desenvolvimento de um modelo vacinal para mucosas com nanopartícula de quitosana. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Hansen, S.M., Ulbjerg, N., Kilian, M. e Sorensen, U.B.S. 2004. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. *J. Clin. Microbiol.*, 42: 83-89.



- Hayes, Katherine, Fiona O'Halloran, and Lesley Cotter. "A review of antibiotic resistance in Group B Streptococcus: the story so far." *Critical reviews in microbiology* 46.3 .2020. 253-269.
- Hedén, L.-O., Frithz, E. e Lindahl, G. 1991. Molecular characterization of an IgA receptor from group B streptococci: sequence of the gene, identification of a prolinerich region with unique structure and isolation of N-terminal fragments with IgAbinding capacity. *Eur. J. Immunol.* 21: 1481–1490.
- Hebert, M. A.; Beveridge, C. J. & Saunders, N. J. 2004. Bacterial virulence factors in neonatal sepsis: group B *Streptococcus*. *Curr Opin Infect Dis.*, 17: 225-229.
- Hensler, M. E., Quach, D., Hsieh, C. J., Doran, K. S. e Nizet, V. 2008. CAMP fator is not essential for systemic virulence of Group B *Streptococcus*. *Microb. Pathog.*, 44:84-88.
- Hickman, M. E., Rench, M. A., Ferrieri, P. e Baker, C. J. 1999. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. *Pediatrics*, 104: 203–209.
- Hirai, Nobuyasu, et al. "Clinical characteristics and molecular epidemiology of invasive Streptococcus agalactiae infections between 2007 and 2016 in Nara, Japan." *PLoS One* 15.10 .2020. e0240590.
- Hou, D, Zhou, X., Zhong, X., Settles, M., Herring, J., Wang, L., Abdo, Z., Forney, L. J. e Xu C. 2013. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertil Steril.*, 100: 1261–1269.
- Hoshino, K., Suzuki, Y., Nishida, H., Kaneko, K., Matsuda, S., Kobayashi, M. e Kadoi, N. 2002. Trend of neonatal group B streptococcal infection during the last 15 years. *Pediatr. Int.*, 44: 641–646.
- Hsueh, P.R., Teng, L.J., Lee, L.N., Ho, S.W., Yang, P.C. e Luh, K.T. 2001. High incidence of erythromycin resistance among clinical isolates of *Streptococcus agalactiae* in Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother*, 45 3205-3208.
- Hwang, M. N. e Ederer, G. M. 1975. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group-B streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 1:114-115.
- Hull, J. R.; Tamura, G. S. e Castner, D. G. 2008. Interactions of the streptococcal C5a peptidase with human fibronectin. *Acta Biomater.*, 4:504–513.
- Ippolito, D. L., James, W. A., Tinnemore, D., Huang, R. R., Dehart, M. J., Williams, J., Wingerd, M.E e Demons, S.T.. 2010. Group B *Streptococcus* serotype prevalence in reproductive-age women at a tertiary care military medical center relative to global serotype distribution. *BMC Infect. Dis*, 10: 336.
- Jarva, H., Jokiranta, T. S., Würzner, R. e Meri, S. 2003. Complement resistance mechanisms of streptococci. *Mol.Immunol.*, 40:95-107.
- Jensen A. e Kilian M. 2012. Delineation of *Streptococcus dysgalactiae*, its subspecies, and its clinical and phylogenetic relationship to *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol.*, 50:113-26.
- João, E. C.; Gouvêa, M. I.; Menezes, J. A.; Matos, H. J.; Cruz, M. L.; Rodrigues, C. A.; de Souza, M. J.; Fracalanza, S. E.; Botelho, A. C.; Calvet, G. A. e Grinstzein, B. G. 2011. Group B *Streptococcus* in a cohort of HIV-infected pregnant women: prevalence of colonization, identification and antimicrobial susceptibility profile. *Scand J Infect Dis.*, 43:742-746.
- Johri A.K., Paoletti L.C., Glaser P, Dua M, Sharma P.K, Grandi G. e Rappuoli, R. 2006. Group B *Streptococcus*: Global incidence and vaccine development. *Nat Rev Microbiol.*, 4: 932 – 942.
- Jonsson, I. M.; Pietrocola, G.; Speziale, P.; Verdrengh, M. e Tarkowski, A. 2005. Role of fibrinogen-binding adhesin expression in septic arthritis and septicemia caused by *Streptococcus agalactiae*. *J. Infect. Dis.*, 192: 1456-1464.
- Karunakaran, R., Raja, N. S., Hafeez, A. e Puthuchery, S. D. 2009. Group B *Streptococcus* infection: epidemiology, serotypes, and antimicrobial susceptibility of selected isolates in the population beyond infancy (excluding females with genital tract- and pregnancy-related isolates) at the University Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62: 192–194.
- Kaur, H., Kumar, P., Ray, P., Kaur, J. e Chakraborti, A. 2009. Biofilm formation in clinical isolates of group B streptococci from north India. *Microb.Pathog.*, 46: 321–327.

- Keefe, G.P. 1997. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can. Vet.*, 38: 429-437.
- Keskin, F., Ciftci, S., Cakarer, S., Selvi, F., Can, T., Ozel, S. e Keskin, C. 2011. Detection of the anaerobic bacteria in the odontogenic cyst fluids using polymerase chain reaction (PCR) method. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5: 1999-2002.
- Kfourri, Renato de Ávila, et al. "Capsular genotype distribution of Group B Streptococcus colonization among at-risk pregnant women in Sao Paulo, Brazil." *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 25 .2021.
- Khodaeia, F., Najafib, M., Hasania, A., Kalantarc, E., Sharifid, E., Aminie, A. e Aghazadeha, A. 2018. Pilus-encoding islets in *S. agalactiae* and its association with antibacterial resistance and serotype distribution. *Microb. Pathogen.*, 116: 189–194.
- Kimura, K.; Satowa, S.; Jun-Ichi, W.; Hiroshi, K.; Kunikazu, Y.; Naohiro, S.; Noriyuki, N.; Haru, K.; Shibayama, K. e Arakawa, Y. 2008. First molecular characterization of group B streptococci with reduce penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.*, 52: 2890- 2897.
- Kline, Kimberly A., and Amanda L. Lewis. "Gram-positive uropathogens, polymicrobial urinary tract infection, and the emerging microbiota of the urinary tract." *Urinary tract infections: Molecular pathogenesis and clinical management* .2017. 459-502.
- Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schereckenberger, P. C.; Winn Jr, W. C. 2008. *Diagnóstico microbiológico*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara.
- Konto-Ghiorghi, Y., Mairey, E., Mallet, A., Duménil, G., Caliot, E., Trieu-Cuot, P. e Dramsi, S. 2009. Dual role for pilus in adherence to epithelial cells and biofilm formation in *Streptococcus agalactiae*. *PLoS Path.*, 5: e1000422.
- Lachenauer, C. S., Creti, R., Miche, J. L. L. & Madoff, L. C. 2000. Mosaicism in the alpha-like protein genes of group B streptococci. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 9630-9635.
- Lachenaver, C., Kasper, D.L., Shimada, J., Ichiman, Y., Ohtsuka, H., Kaku, M., Paoletti, L. C., Ferrieri, P. e Madoff, L. C. 1999. Serotype VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J. Infect. Dis.*, 179: 1030-1033.
- Lamagni, T. L., Keshishian, C., Efstratiou, A., Guy, R., Henderson, K. L., Broughton, K. e Sheridan, E. 2013. Emerging trends in the epidemiology of invasive group B streptococcal disease in England and Wales, 1991-2010. *Clin. Infect. Dis.*, 57: 682–688.
- Lancefield, R.C. 1933. A serological differentiation of human and other group of haemolytic streptococci. *J. Exp. Med.*, 57: 571-595.
- Lang S e Palmer M. 2003. Characterization of *Streptococcus agalactiae* CAMP factor as a pore-forming toxin. *J. Biol. Chem.*, 278: 38167-73.
- Lauer, P., Rinaudo, C. D., Soriani, M., Margarit, I., Maione, D., Rosini, R., Taddei, A. R. , Mora, M., Rappuoli, R., Grandi, G. e Telford, J. L . 2005. Genome analysis reveals pili in Group B *Streptococcus*. *Science* 309:105.
- Le Doare K. e Heath, P.T. 2013. An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*, 31: 7-12.
- Lemire, P., Houde, M., Lecours, M.P., Fittipaldi, N. e Segura, M. 2012. Role of capsular polysaccharide in Group B *Streptococcus* interactions with dendritic cells. *Microbes Infect.*, 14:1064 –1076.
- Li, C., Sapugahawatte, D. N., Yang, Y., Wong, K. T., Lo, N. W. e Ip, M. 2020. Multidrug-Resistant *Streptococcus agalactiae* strains found in Human and fish with high penicillin and cefotaxime non-susceptibilities. *Microorganisms*, 8:,1055.
- Lin, S. M., Zhi, Y., Ahn, K. B., Lim, S. e Seo, H. S. 2018. Status of group B streptococcal vaccine development. *Clin. Exp. Vaccine Res.*, 7: 76–81.
- Lindahl, G., Ståhlhammar-Carlemalm, M. e Areschoug T. 2005. Surface proteins of *Streptococcus agalactiae* and related proteins in other bacterial pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.*, 18:102-127.

- Lipsky, Benjamin A., et al. "Skin and soft tissue infections in hospitalised patients with diabetes: culture isolates and risk factors associated with mortality, length of stay and cost." *Diabetologia* 53 .2010. 914-923.
- Longtin, J., Vermeiren, C., Shahinas, D., Tamber, G.S., Mcgeer, A., Low, D.E., Katz, K. e Pillai, D.R. 2011. Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy. *Antimicrob Agents Chemother.*,55: 2983-2985.
- Lopardo, H.A., Vidal, P., Jeric, P., Centron, D., Paganini, H., Facklam, R.R. e Elliott, J.; Argentinian *Streptococcus* Study Group. 2003. Six-month multicenter study on invasive infections due to group B streptococci in Argentina. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 4688-4694.
- Luan, S.L., Granlund, M., Sellin, M., Lagergård, T., Spratt, B.G. e Norgren, M. 2005. Multilocus sequence typing of Swedish invasive group B *Streptococcus* isolates indicates a neonatally associated genetic lineage and capsule switching. *J. Clin. Microbiol.*, 43: 3727-3733.
- Maisey, H. C., Doran, K. S. e Nizet, V. 2008. Recent advances in understanding the molecular basis of group B *Streptococcus* virulence. *Expert Ver. Mol. Med.*, 10: e27.
- Manetti, A.G.O., Thomas, K., Becherelli, M., Buccato, S., Kreikemeyer, B., Podbielski, A., Grandi, G. e Margarit, I. 2010. Environmental acidification drives *S. pyogenes* pilus expression and microcolony formation on epithelial cells in a FCT-dependent manner. *PLoS One* 5:, e13864.
- Manetti, A. G.; Zingaretti, C.; Falugi, F.; Capo, S. & Bombaci, M.; Bagnoli, F.; Gambellini, G.; Bensi, G.; Mora, M.; Edwards, A. M.; Musser, J. M.; Graviss, E. A.; Telford, J. L.; Grandi, G. e Margarit, I. 2007. *Streptococcus pyogenes* pili.
- Marconi, Camila, et al. "Detection of *Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women by using combined swab cultures: cross-sectional prevalence study." *Sao Paulo Medical Journal* 128 .2010. 60-62.
- Marques, M.B., Kasper, D.L., Pangburn, M.K. e Wessel, M.R. 1992. Prevention of C3 deposition by capsular polysaccharide is a virulence mechanism of type III group B streptococci. *Infect. Immun.*, 60:3986-3993.
- Martinez-Gutierrez, F., Boegli, L., Agostinho, A., Sánchez, E., Bach, H., Ruiz, F. e James, G., 2013. Antibiofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *J. Bioadhesion Biofilm Res.*, 29: 651-660.
- Mathai, D., Jones, R. N., Pfaller, M. A. ; SENTRY Participant Group North America. 2001. Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1,510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America). *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, 40: 129-136.
- Matsubara, K., Katayama, K., Baba, K., Nigami, H., Harigaya, H., e Sugiyama, M. 2002. Seroepidemiologic studies of serotype VIII group B *Streptococcus* in Japan. *J. Infect. Dis.*, 186: 855-858.
- McCracken, G.H. 1973. Group B streptococci: the new challenge in neonatal infections. *J. Pediatr.*, 82: 703- 706.
- McGee, Lesley, et al. "Multistate, population-based distributions of candidate vaccine targets, clonal complexes, and resistance features of invasive group B streptococci within the United States, 2015-2017." *Clinical Infectious Diseases* 72.6. 2021 .1004-1013.
- Melin, P. 2011. Neonatal group B streptococcal disease: from pathogenesis to preventive strategies. *Clin. Microbiol. Infect.*,17:,1294-303.
- Melin, P. e Efstratiou, A. 2013. Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries. *Vaccine*, 31: 31-42.
- Metcalf B.J, Chochua, S., Gertz R.E. Jr, Hawkins, P.A., Ricaldi, J., Li, Z., Walker, H., Tran, T., Rivers, J., Mathis, S., Jackson, D., Glennen, A., Lynfield, R., McGee, L., Beall, B. e Active Bacterial Core surveillance team. 2017. Short-read whole genome sequencing for determination of antimicrobial resistance mechanisms and capsular serotypes of current invasive *Streptococcus agalactiae* recovered in the USA. *Clin. Microbiol. Infect.*, 23: 574.e7-14.

- Mian, G.F., Godoy, D.T., Leal, C.A., Yuhara, T.Y., Costa, G.M. e Figueiredo, H.C. 2009. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. *Vet. Microbiol.*, 136: 180-183.
- Miró, E., Rebollo, M., Rivera, A., Álvarez, M.T., Navarro, F., Mirelis, B. e Coll, P. 2006. *Streptococcus agalactiae* altamente resistente a fluoroquinolonas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 24,:562-563.
- Muñoz, P., Llancaqueo, A., Rodríguez-Créixems, M., Peláez, T., Martín, L. e Bouza, E. 1997. Group B *Streptococcus* bacteremia in nonpregnant adults. *Arch. Intern. Med.*, 27: 213-216.
- Murayama, S.Y., Seki, C., Sakata, H., Sunaoshi, K., Nakayama, E., Iwata, S., Sunakawa, K., Ubukata, K.; Invasive streptococcal disease working group. 2009. Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from patients, ranging from newborns to the elderly, with invasive infections. *Antimicrob Agents Chemother.*, 53: 2650- 2653.
- Murdoch, D.R. e Reller, L.B. 2001. Antimicrobial susceptibilities of group B streptococci isolated from patients with invasive disease: 10-year perspective. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45: 3623-3624.
- Moscoso, M., Garcia, E. e Lopez, R. 2006. Biofilm formation by *Streptococcus pneumoniae*: role of choline, extracellular DNA, and capsular polysaccharide in microbial accretion. *J. Bacteriol.*, 188: 7785–7795.
- Nagano, N., Nagano, Y., Toyama, M., Kimura, K., Tamura, T., Shibayama, K. e Arakawa, Y. 2012. Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1. *J Antimicrob. Chemother.*, 67: 848-856.
- Nakamura, P. A. M., Schuab, R. B. B., Neves, F. P. G., Pereira, C. F. A., De Paula, G. R. e Barros, R. R. 2011. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of *Streptococcus agalactiae*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 106:119-122.
- Nizet, V. 2002. Streptococcal -hemolysis: genetics and role in disease pathogenesis. *Trends Microbiol*, 10,:575-580.
- Oliveira, I.C., De Mattos, M.C., Pinto, T.A., Ferreira-Carvalho, B.T., Benchetrit, L.C., Whiting, A.A., Bohnsack, J.F. e Figueiredo, A.M. 2006. Genetic relatedness between group B streptococci originating from bovine mastitis and a human group B *Streptococcus* type V cluster displaying an identical pulsed-field gel electrophoresis pattern. *Clin. Microbiol. Infect.*, 12: 887-893.
- Otaguiri, Eliane Saori, et al. "Commensal *Streptococcus agalactiae* isolated from patients seen at University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil: capsular types, genotyping, antimicrobial susceptibility and virulence determinants." *BMC microbiology* 13 .2013. 1-9.
- Paoletti, L. J., Bradford, J. e Paoletti, L. C. 1999. A serotype VIII strain among colonizing group B streptococcal isolates in Boston, Massachusetts. *J. Clin. Microbiol.*, 37: 3759–3760.
- Parker, R. E., Laut, C., Gaddy, J. A., Zadoks, R. N., Davies, H.D. e Manning, S.D. 2016. Association between genotypic diversity and biofilm production in group B *Streptococcus*. *BMC Microbiol.*, 16: 86.
- Pasternak, Jacyr. "New methods of microbiological identification using MALDI-TOF." *Einstein (Sao Paulo)* 10 (2012): 118-119.
- Pezzicoli, A., Ruggiero, P., Amerighi, F., Telford, J.L. e Soriani. M. 2012. Exogenous sialic acid transport contributes to group B *Streptococcus* infection of mucosal surfaces. *J. Infect. Dis.*, 206: 924–931.
- Phares, C. R.; Lynfield, R.; Farley, M. M.; Mohle-Boetani, J.; Harrison, L. H.; Petit, S.; Craig, A. S.; Schaffner, W.; Zansky, S. M.; Gershman, K.; Stefonek, K. R.; Albanese, B. A.; Zell, E. R.; Schuchat, A. e Schrag, S. J. 2008. Active Bacterial Core surveillance/Emerging Infections Program Network. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA.*, 299: 2056-2065.
- Phillips, Edna A., John W. Tapsall, and Douglas D. Smith. "Rapid tube CAMP test for identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B)." *Journal of Clinical Microbiology* 12.2 .1980. 135-137.
- Pierno, M., Maravigna, L., Piazza, R., Visai, L. e Speziale, P. 2006. FbsA-driven fibrinogen polymerization: a bacterial "deceiving strategy. *Phys. Rev. Letters*, 96: 028108.

- Pinto, T. C.; Costa, N. S.; Vianna Souza, A. R.; Silva, L. G.; Corrêa, A. B.; Fernandes, F. G.; Oliveira, I. C.; Mattos, M. C.; Rosado, A. S. e Benchetrit, L. C. 2013. Distribution of serotypes and evaluation of antimicrobial susceptibility among human and bovine *Streptococcus agalactiae* strains isolated in Brazil between 1980 and 2006. *Braz. J. Infect. Dis.*,7:131-136.
- Poyart, C., Jardy, L., Quesne, G., Berche, P. e Trieu-Cuot, P. 2003. Genetic basis of antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* strains isolated in a French hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47: 794-797.
- Raabe, Vanessa N., and Andi L. Shane. "Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*)." *Microbiology spectrum* 7.2 .2019. 7-2.
- Rinaudo, C. D., Rosini, R., Galeotti, C. L., Berti, F., Necchi, F., Reguzzi, V., Ghezzi, C., Telford, J. L., Grandi, G. e Maione, D. 2010. Specific involvement of pilus type 2a in biofilm formation in group B *Streptococcus*. *PLoS One*, 5:e9216.
- Rosa-Fraile, Manuel, and Barbara Spellerberg. "Reliable detection of group B *Streptococcus* in the clinical laboratory." *Journal of clinical microbiology* 55.9 .2017. 2590-2598.
- Rosini, R. e Margarit, I. 2015. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 5: 6.
- Rosini, R., Rinaudo, C. D., Soriani, M., Lauer, P., Mora, M., Maione, D., Taddei, A., Santi, I., Ghezzi, C., Brettoni, C., Buccato, S., Margarit, I., Grandi, G. e Telford, J. L., 2006. Identification of novel genomic islands coding for antigenic pilus-like structures in *Streptococcus agalactiae*. *Mol. Microbiol.*,61:126-141.
- Rothen, Julian, et al. "A simple, rapid typing method for *Streptococcus agalactiae* based on ribosomal subunit proteins by MALDI-TOF MS." *Scientific reports* 10.1 .2020. 8788.
- Sanches, G.F. , Lannes-Costa, P. S., Cristoforêto, M. C., Doran, K. S., Mattos-Guaraldi, A. L. e Nagao, P. E. 2021. *Streptococcus agalactiae* strains isolated from cancer patients in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 52: 303–310.
- Santi, I., Scarselli, M., Mariani, M., Pezzicoli, A., Masignani, V. e Taddei, A. 2007. BibA: a novel immunogenic bacterial adhesin contributing to group B *Streptococcus* survival in human blood. *Mol. Microbiol.*, 63,:754–767.
- Santi, I., Maione, D., Galeotti, C. L., Grandi, G., Telford, J. L. e Soriani, M. 2009. BibA induces opsonizing antibodies conferring in vivo protection against group B *Streptococcus*. *J. Infect. Dis.*, 200:564–570.
- Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K e Schuchat A. 2002. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep.*,51:1–22.
- Shabayek, S. e Spellerberg, B. 2018. Group B streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Frontiers Microbiol*, 9:437.
- Schrag, S.J. e Verani, J.R. 2013. Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease: experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine. *Vaccine*, 31:20-26.
- Schubert, A., Zakikhany, K., Schreiner, M., Frank, R., Spellerberg, B., Eikmanns, B. J e Reinscheid, D. J. 2002. A fibrinogen receptor from group B *Streptococcus* interacts with fibrinogen by repetitive units with novel ligand binding sites. *Mol. Microbiol.*,46: 557-569.
- Schubert, A., Zakikhany, K., Pietrocola, G., Meinke, A., Speziale, P., Eikmanns, B. J. e Reinscheid, D. J. 2004. The fibrinogen receptor FbsA promotes adherence of *Streptococcus agalactiae* to human epithelial cells. *Infect. Immun.* 72: 6197–6205.
- Schuchat, A. 1998. Epidemiology of group B Streptococcal disease in the United States shifting paradigms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11: 497-513.
- Shabayek, S., Abdalla, S., e Abouzeid, A. M. 2014. Serotype and surface protein gene distribution of colonizing group B *Streptococcus* in women in Egypt. *Epidemiol. Infect.*, 142: 208–210.
- Shigehara, Kazuyoshi, et al .2008. "Acute bacterial prostatitis after transrectal prostate needle biopsy: clinical analysis." *Journal of Infection and Chemotherapy* 14. 40-43.

- Shipitsyna, Elena, et al. "Significant shifts in the distribution of vaccine capsular polysaccharide types and rates of antimicrobial resistance of perinatal group B streptococci within the last decade in St. Petersburg, Russia." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 39.8 .2020. 1487-1493.
- Simoes, Jose Antonio, et al. "Phenotypical characteristics of group B streptococcus in parturients." *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 11 .2007. 261-266.
- Simoni, S., Vincenzi, C., Brenciani, A., Morroni, G., Bagnarelli, P., Giovanetti, E., Varaldo, P. E. e Mingoia, M. 2018. Molecular characterization of Italian isolates of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus agalactiae* and relationships with chloramphenicol resistance. *Microb. Drug Resist.*, 24:225–231.
- Skoff, Tami H., et al. "Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990–2007." *Clinical Infectious Diseases* 49.1.2009. 85-92.
- Slotved, H.C., Kong, F., Lambertsen, L., Sauer, S. e Gilbert, G.L. 2007. Serotype IX, a proposed new *Streptococcus agalactiae* serotype. *J. Clin. Microbiol.*,45:2929-2936.
- Soares, Georgia Cristina Tavolaro, et al. "Prevalence of Group B Streptococcus serotypes III and V in pregnant women of Rio de Janeiro, Brazil." *Brazilian Journal of Microbiology* 44 .2013. 869-872.
- Soriani, M. e Telford, J. L. 2010. Relevance of pili in pathogenic streptococci pathogenesis and vaccine development. *Fut. Microbiol.*, 5: 735–747.
- Tazi, A., Disson, O., Bellais, S., Bouaboud, A., Dmytruk, N., Dramsi, S., Mistou, M.-Y., Khun, H., Mechler, C., Tardieux, I., Trieu-Cuot, P. Lecuit, M. e Poyart, C. 2010. The surface protein HvgA mediates group B *Streptococcus* hypervirulence and meningial tropism in neonates. *J. Exp. Med.*, 207:2313–2322.
- Tazi, A., Gueudet, T., Varon, E., Gilly, L., Trieu-Cuot, P. e Poyart, C. 2008. Fluoroquinolone- resistant group B streptococci in acute exacerbation of chronic bronchitis. *Emerg. Infect. Dis.*,14:349- 350.
- Tazi A., Plainvert C., Anselem O., Ballon M., Marcou V., Seco A., et al. 2019. Risk factors for infant colonization by hypervirulent CC17 group B *Streptococcus*: toward the understanding of late-onset disease. *Clin. Infect. Dis.*, 69: 1740–1748.
- Tazzi, A., Morand, P.C., Réglier-Poupet, H., Dmytruk, N., Billoët, A., Antona, D., Trieu-Cuot, P. e Poyart, C. 2011. Invasive group B streptococcal infections in adults, France (2007- 2010). *Clin Microbiol Infect*, 17: 1587-1589.
- Teatero S., Athey T. B. T., Van Caesele P., Horsman G., Alexander D. C., Melano R. G., et al. 2015. Emergence of serotype iv group B *Streptococcus* adult invasive disease in Manitoba and Saskatchewan, Canada, is driven by clonal sequence type 459 strains. *J. Clin. Microbiol*, 53: 2919–2926.
- Teixeira L. M., Pinto T. C. A. e Merquior VLC. 2015. *Streptococcus*, *Enterococcus* e gêneros relacionados. In:Trabulsi LR, Alterthum F, editores. *Microbiologia*, 195-199.
- Ton-That,H. e Schneewind, O. 2004. Assembly of pilin Gram-positive bacteria. *TrendsMicrobiol*. 12: 228–234.
- Uh Y., Kim H. Y., Jang I. H., Hwang G. Y. e Yoon K. J. 2005. Correlation of serotypes and genotypes of macrolide-resistant *Streptococcus agalactiae*. *Yonsei Med. J.*, 46: 480–483.
- Ulett, Glen C., et al. "Uropathogenic Escherichia coli virulence and innate immune responses during urinary tract infection." *Current opinion in microbiology* 16.1 .2013. 100-107.
- Verani, J. R., McGee, L. e Schrag, S. J. 2010. Division of Bacterial Diseases National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B Streptococcal disease–revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR*, 59: 1–36.
- Vigliarolo, Laura, et al. "Argentinian multicenter study on urinary tract infections due to Streptococcus agalactiae in adult patients." *The Journal of Infection in Developing Countries* 13.01 .2019. 77-82.
- Von Both, U., Ruess, M., Mueller, U., Fluegge, K., Sander, A. e Berner, R. 2003. A serotype V clone is predominant among erythromycin-resistant *Streptococcus agalactiae* isolates in a southwestern region of Germany. *J. Clin. Microbiol.*, 41,:2166-2169.

- Xiong, Xi-Lin, Chun-Yu Yu, and Mo Wang. "Etiologic Features of Respiratory Tract Infections Seen in Children with Primary Nephrotic Syndrome: A Cross-Sectional Retrospective Study." *Iranian Journal of Pediatrics* 30.6 .2020.
- Wang, H., Zhao, C., He, W., Zhang, F., Zhang, L., Cao, B., Sun, Z., Xu, Y., Yang, Q., Mei, Y., Hu, B., Chu, Y., Liao, K., Yu, Y., Hu, Z., Ni, Y. 2013. High Prevalence of fluoroquinolone-resistant group B streptococci among clinical isolates in China and predominance of sequence type 19 with serotype III. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 1538–1541.
- Watkins, Louise K. Francois, et al. "Epidemiology of invasive group B streptococcal infections among nonpregnant adults in the United States, 2008-2016." *JAMA internal medicine* 179.4 .2019. 479-488.
- Wehbeh,W, Rojas-Diaz, R., Li, X., Mariano,N., Grenner,L., Segal-Maurer,S., Tommasulo, B.C., Drlica,K, Urban, C. e Rahal, J.J. 2005. Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus agalactiae*: epidemiology and mechanism of resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 2495–2497.
- Wieser, Andreas, et al. "MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review)." *Applied microbiology and biotechnology* 93. 2012. 965-974.
- Wu, C.J., Lai, J.F., Huang, I.W. , Hsieh, L.Y. e Wang, H,Y, 2017. Multiclonal emergence of levofloxacin-resistant Group B *Streptococcus*, Taiwan. *J. Antimicrob. Chemother.* 72, 3263–3271.
- Werno, A.M., Anderson, T.P. e Murdoch, D.R. 2003. Antimicrobial susceptibilities of group B streptococci in New Zealand. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 2710-2711.
- Willems, R.J., Hanage, W.P., Bessen, D.E., Feil, E.J. 2011. Population biology of Gram-positive pathogens: high-risk clones for dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 35: 872-900.
- Xia, F.D., , Mallet, A., Caliot, E., Gao, C., Trieu-Cuot, P. e Dramsi, S. 2015. Capsular polysaccharide of Group B *Streptococcus* mediates biofilm formation in the presence of human plasma. *Microbes Infect.*, 17: 71-76.
- Yang, Q., Porter, A.J., Zhang, M., Harrington,D.J., Black, G.W. e Sutcliffe, I.C.. 2012. The impact of pH and nutrient stress on the growth and survival of *Streptococcus agalactiae*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 102: 277–287.
- Yook, J.H., Kim M.Y., Kim, E.J., Yang, J.H., Ryu, H.M., Oh, K.Y., Shin, J.H., Foxman, B., Ki, M. 2013. Risk factors associated with group B *Streptococcus* resistant to clindamycin and erythromycin in pregnant korean women. *Infect. Chemother.*, 45: 299-307.
- Yoon, In Ae, et al. "Clinical significance of serotype V among infants with invasive group B streptococcal infections in South Korea." *International Journal of Infectious Diseases* 38 .2015. 136-140.
- Zadoks, R. N., Middleton, J. R., S., McDougall, J., Katholm, e Schukken, Y. H. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*, 16: 357–3.
- Zhang L, Kang W-J, Zhu L, Xu L-J, Guo C, Zhang X-H, Liu Q-H and Ma L. 2021. Emergence of Invasive Serotype Ib Sequence Type 10 Group B *Streptococcus* Disease in Chinese Infants Is Driven by a Tetracycline-Sensitive Clone. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 11642455.
- Zhu, Luchang, et al. "Genetic basis underlying the hyperhemolytic phenotype of *Streptococcus agalactiae* strain CNCTC10/84." *Journal of bacteriology* 202.23 .2020. e00504-20.

**ANEXO 1.** Informações sobre as amostras de GBS incluídas no estudo.

Nº LIMM	Origem	Sexo	Material clínico	Hemólise	CAMP	Sorotipo (látex)	MALDI	Van	Tet	Lev	Pen	Cli	Eri
4499	NI	NI	URINA	SIM	Positivo	III	<i>S. agalactiae</i>	18	28	21	32	26	26
4522	NI	NI	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	19	14	23	30	22	24
4529	NI	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	29	23	34	22	24
14303	NI	NI	URINA	SIM	Positivo	III	<i>S. agalactiae</i>	17	26	21	30	22	24
14369	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	19	12	21	32	24	24
14385	RICHET	M	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	17	13	20	30	20	20
14415	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	III	<i>S. agalactiae</i>	17	12	0	30	24	9
14421	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	19	15	20	34	24	24
14423	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	III	<i>S. agalactiae</i>	22	15	22	36	24	28
14424	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	17	16	20	30	23	22
14433	RICHET	M	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	27	21	34	22	24
14434	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	19	20	24	30	22	26
14443	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	17	13	21	33	23	12
14444	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	15	0	32	21	10
14445	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	17	14	19	30	20	10
14447	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	18	27	20	30	18	20
14450	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	28	20	32	22	24
14463	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	17	29	22	30	22	24
14466	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	IV	<i>S. agalactiae</i>	17	25	20	30	20	24
14472	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	17	12	20	32	20	24
14473	RICHET	M	URINA	SIM	Positivo	IX	<i>S. agalactiae</i>	17	14	20	30	20	24



14474	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	19	11	22	29	20	9
14475	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	17	12	12	29	20	14
14481	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	12	22	30	26	28
14485	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	18	13	20	32	24	10
14486	NI	NI	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	19	14	20	31	20	0
14492	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	18	12	20	36	20	24
14494	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	18	13	20	30	18	8
14498	RICHET	NI	URINA	SIM	Positivo	IX	<i>S. agalactiae</i>	19	16	22	32	20	24
14509	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	13	22	32	24	22
14517	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	IX	<i>S. agalactiae</i>	17	24	21	30	18	24
14518	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	14	20	30	22	22
14522	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	II	<i>S. agalactiae</i>	17	16	22	30	22	22
14525	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	18	14	21	30	24	24
14526	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	Ia	<i>S. agalactiae</i>	17	12	22	30	20	24
14527	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	Ib	<i>S. agalactiae</i>	20	15	21	30	20	24
14528	RICHET	F	URINA	SIM	Positivo	V	<i>S. agalactiae</i>	17	14	20	30	20	24

NI: Não informado.

F, feminino; M, masculino.

Van, vancomicina; Tet, tetraciclina; Lev, levofloxacina; Pen, penicilina; Cli, clindamicina; Eri, eritromicina.

Os valores de halo de inibição (em mm) assinalados de verde foram classificados como sensíveis e em vermelho como não-susceptíveis, segundo as orientações do CLSI.