

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DETECÇÃO DO *Streptococcus agalactiae* REALIZADO
NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Magda Cristina Souza Marques Roehrs

Santa Maria, RS, Brasil

2012

***DETECÇÃO DO *Streptococcus agalactiae* REALIZADO NO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA***

Magda Cristina Souza Marques Roehrs

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientadora: Prof. Dra. Rosmari Hörner

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

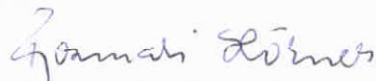
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DETECÇÃO DO *Streptococcus agalactiae* REALIZADO NO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

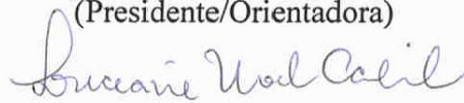
elaborada por
Magda Cristina Souza Marques Roehrs

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:



Rosmari Hörner, Dra.
(Presidente/Orientadora)



Luciane Noal Calil, Dra. (UFRGS)



Melânia Palermo Manfron, Dra. (UFMS)

Santa Maria, 29 de março de 2012.

AGRADECIMENTOS

À orientadora Dra. Rosmari Hörner.

À colega Adriane Regina Veit, minha co-orientada, pela participação e enriquecimento deste trabalho.

À coordenação e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas que contribuíram para a concretização deste trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, especialmente José e Viviane, pela atenção dispensada.

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria.

Ao meu esposo Paulo Gilberto, ao meu filho Paulo e sua noiva Daniele, e à minha filha Paola e seu esposo Cassiano, com muito amor.

Aos meus pais, Israel e Maria Magdalena, e aos meus irmãos, com carinho e gratidão.

Aos meus queridos colegas Geisa, Jardel, Juliana, Sara e Vanessa pelo apoio e incentivo na busca do conhecimento.

À Stela, Daniele e Anelise pelo auxílio e amizade.

Aos colegas do laboratório de microbiologia pelo carinho e acolhida.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de realização deste curso, bem como a CAPES pelo apoio financeiro.

E a todos que direta ou indiretamente me auxiliaram nesta trajetória, o meu muito obrigado.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

DETECÇÃO DO *Streptococcus agalactiae* REALIZADO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA

AUTORA: MAGDA CRISTINA SOUZA MARQUES ROEHR

ORIENTADORA: ROSMARI HÖRNER

Local e data da defesa: Santa Maria, 29 de março de 2012.

A colonização cérvico-vaginal pelo *Streptococcus agalactiae* em gestantes favorece a infecção neonatal de início precoce, podendo causar septicemia, meningite e pneumonia no neonato. O objetivo deste estudo foi verificar os índices de ocorrência da detecção do *Streptococcus agalactiae* em pacientes adultos atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Rio Grande do Sul, Brasil, no período de 2007 a 2010. Também foi realizado um apanhado histórico dos guias *Centers for Disease Control and Prevention*, publicados nos anos de 1996, 2002 e 2010, para a prevenção da doença neonatal causada por Estreptococo do grupo B. Igualmente foi avaliada a prevalência da colonização vaginal e retal pelo *S. agalactiae* em gestantes atendidas no Centro Obstétrico do HUSM de junho a dezembro de 2009. As uroculturas positivas para *Streptococcus agalactiae* dos pacientes atendidos no HUSM no período de 2007 a 2010 também foram avaliadas. Esta pesquisa encontrou uma prevalência de 11,11% da colonização vaginal-retal pelo *Streptococcus agalactiae* em gestantes e, entre todas as uroculturas positivas (6.190/34.898), o EGB foi isolado em 1,52% das amostras (94/6.190). Uma proporção igual foi encontrada entre as grávidas e não grávidas. 40,4% das mulheres, a contagem foi $\geq 10^5$ Unidades Formadoras de Colônias/mL, 53,57%, no intervalo de 10^4 - 10^5 UFC/mL e 6% com contagem menor que 10^4 UFC/mL. Todos os EGB, submetidos à análise, foram sensíveis à penicilina e ampicilina.

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*; gestantes, infecção neonatal.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Post-Graduation Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria-RS-Brazil

DETECTION OF *Streptococcus agalactiae* CARRIED OUT AT SANTA MARIA UNIVERSITY HOSPITAL

AUTHOR: MAGDA CRISTINA SOUZA MARQUES ROEHR

ADVISOR: ROSMARI HÖRNER

Place and date of defense: Santa Maria, March 29th, 2012.

The cervical-vaginal colonization in pregnant women favors the early-onset of neonatal infection which may cause septicemia, meningitis and pneumonia in newborns. This study has as its objective to verify the detection rates of *Streptococcus agalactiae* in adult patients who were seen at Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Rio Grande do Sul, in the period of 2007 to 2010. It was also carried out a data survey concerning the guides, *Centers for Disease Control and Prevention*, published in the years 1996, 2002 and 2010, to future prevent the neonatal disease caused by the Group B *Streptococcus*. It was evaluated the prevalence of vaginal and rectal *S. agalactiae* colonization in pregnant women at the HUSM Obstetric Center from June to December 2009. The *Streptococcus agalactiae* positive urine cultures from patients seen at the HUSM in the period of 2007 to 2010 were evaluated as well. This study found a prevalence of 11,11% in vaginal and rectal *S. agalactiae* colonization in pregnant women and, among all positive cultures (6,190/34,988), the GBS was isolated in 1,52% (94/6,190) of the samples. An equal proportion was found among pregnant and non-pregnant ones. 40,4% of these women presented a score of $\geq 10^5$ Colony – Forming Units per milliliter of urine (CFU/mL), 53,57% , between 10^4 - 10^5 CFU/mL and 6% had a score smaller than 10^4 CFU/mL. All GBS which were submitted to analysis were sensitive to penicillin and ampicillin.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, pregnant women, neonatal infection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Manuscrito

Figure 1	39
Figure 2	40
Figure 3	41

LISTA DE TABELAS

Manuscrito

Table 1.....42

Table 2.....43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1.	Objetivos	11
1.1.1.	Objetivo geral.....	11
1.1.2.	Objetivos específicos.....	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13
2.1.1	Características do <i>Streptococcus agalactiae</i>	13
2.1.2	<i>Streptococcus agalactiae</i> e infecções.....	14
2.1.3	Prevalência de colonização por <i>Streptococcus agalactiae</i> em gestantes	15
2.1.4	Fatores de risco para o desenvolvimento da doença de início precoce.....	16
2.1.5	Estratégias preventivas e terapêuticas intraparto para a prevenção da doença de início precoce desenvolvidas pelo <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (CDC).....	17
2.1.6	Resistência do <i>Streptococcus agalactiae</i>	21
2.1.7	Vacinas para a prevenção das doenças neonatais causadas por EGB.....	22
3	PUBLICAÇÕES	23
3.1	Manuscrito	23
	Abstract	24
	Resumo	25
	Introduction	26
	Methods	28
	Ethics	28
	Results	29
	Discussion	30
	Aknowlegments	33
	Conflict of interests	33
	Financial support	33
	References	34
3.2	Artigo	44
4	DISCUSSÃO GERAL	51
5	CONCLUSÕES	54
6	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Streptococcus agalactiae (EGB) é um habitante normal do trato gastrintestinal, podendo colonizar a vagina de maneira crônica ou intermitente, em cerca de um terço das mulheres. Nas infecções do trato urinário (ITU), o EGB pode ocasionar bacteriúria assintomática, cistite, pielonefrite, uretrite, e urosepse (LEFEVRE et al., 1991; MUÑOZ et al., 1992; BRONSEMA et al., 1993; FARLEY et al., 1993; MCKENNA, MATSON, NORTHERN, 2003; EDWARDS, BAKER, 2005), com variações individuais. Em pacientes idosos e em pacientes com baixa imunidade prevalece a cistite e nas mulheres grávidas a bacteriúria assintomática (EDWARDS, BAKER, 2005; FALAGAS et al., 2006; MULLER et al., 2006).

As gestantes colonizadas são geralmente assintomáticas, porém o EGB é responsável por 2 a 4% das infecções urinárias durante a gestação (CDC, 2002). Na gravidez e no puerpério esta colonização pode comprometer o âmnio, endométrio e parede abdominal, levando ao aborto ou à prematuridade (GIBBS, SCHARAG, SCHUCHAT, 2004).

Cerca de 50 a 75% dos neonatos expostos ao EGB intravaginal tornam-se colonizados e 1 a 2% de todos os recém-nascidos de mães portadoras desenvolverão doença invasiva de início precoce (MERCOLA, 2001; QUENTIN, MORANGE-SAUSSIER, WATT, 2002; JAHROMI, POORARIAN, POORBARFEHEE, 2008; NOMURA, 2009). As infecções invasivas neonatais por *Streptococcus agalactiae* são mais comuns que outras doenças neonatais, como rubéola e sífilis (CDC, 2002).

A infecção sistêmica por este microrganismo apresenta duas formas de manifestação no recém-nascido: a) doença de início precoce que deriva de transmissão vertical através da exposição ao EGB da vagina de uma mulher colonizada. b) doença de início tardio, que se manifesta de 7 dias a 12 semanas de vida, podendo ser de origem materna ou nosocomial (CDC, 2002). Além disso, o EGB também se encontra envolvido em infecções invasivas graves. A incidência destas infecções tem aumentado nos últimos anos entre pacientes adultos não gestantes, pacientes com idade avançada e imunodeprimidos (GRANGER, 2006).

Em 1996, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) elaborou diretrizes para a prevenção da infecção precoce do neonato por este patógeno, recomendando a prescrição de quimioprofilaxia em duas situações: 1) em todas as grávidas colonizadas com EGB, de acordo com os resultados da cultura realizada entre a 35^a e a 37^a semana de gravidez, ou 2) nas grávidas que, não tendo sido submetidas à pesquisa de colonização pelo EGB,

apresentarem algum dos fatores de risco para a contaminação da criança, como tempo de ruptura de membrana maior ou igual há 18 horas, e temperatura igual ou superior a 38°C durante o parto e/ou prematuridade. Posterior atualização das diretrizes, realizada em 2002, enfatiza a maior eficácia do protocolo baseado na pesquisa de colonização pelo EGB quando comparado ao protocolo baseado nos fatores de risco. Indica a quimioprofilaxia nas gestantes que apresentem bacteriúria por EGB durante a gravidez ou que tiveram um filho com doença precoce por este agente (CDC, 2002; APGAR, GREENBERG, YEN, 2005). Em junho de 2009, foram reavaliadas as estratégias de prevenção com base em dados coletados após a emissão de Diretrizes de 2002. Entre as principais mudanças para 2010 incluem as recomendações expandidas para métodos laboratoriais de identificação do EGB, e o estabelecimento de um limite na contagem de colônias em uroculturas de mulheres grávidas (CDC, 2010).

Os antibióticos habitualmente utilizados na quimioprofilaxia são penicilina G ou ampicilina e, para os casos de alergia a estes fármacos, cefazolina, clindamicina e vancomicina são recomendados conforme o grau de risco de anafilaxia (CDC, 2010). A presença de taxas de prevalência de colonização materna entre 15 e 25 % coloca o Brasil num patamar preocupante ao se considerar que é possível que taxas elevadas de infecção neonatal de início precoce estejam ocorrendo sem serem identificadas (COSTA et al., 2008), já que, neste país, não existem manuais ou recomendações técnicas sobre o tema (BRASIL, 2001).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Analisar a ocorrência da colonização pelo *Streptococcus agalactiae* em pacientes adultos atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), no período 2007 a 2010.

1.1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a prevalência da colonização vaginal e retal pelo *Streptococcus agalactiae* em gestantes atendidas no Centro de Obstetrícia do HUSM.
- Analisar as uroculturas positivas para *Streptococcus agalactiae* de pacientes atendidos no HUSM no período de 2007 a 2010 através de uma análise retrospectiva de culturas nas quais houve isolamento do mesmo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Streptococcus agalactiae*

2.1.1 Características do *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae caracteriza-se por células esféricas ou ovóides gram-positivas, catalase negativa, que se apresentam aos pares ou em cadeias. São imóveis, não esporulados e anaeróbios facultativos (KONEMAN et al., 2008). Esta bactéria, chamada também de estreptococo do grupo B (EGB), contém o antígeno do grupo B de Lancefield, um polissacarídeo de superfície celular tipo-específico e proteínas antigênicas. Este antígeno B é composto de um polímero de ramnose-glicosamina fixado à camada de peptidoglicano. A especificidade de tipo é determinada pelo polissacarídeo capsular, constituído por glicose, galactose, N-acetil-glicosamina e ácido N-acetil-neuramínico (ácido siálico) dispostos em diferentes arranjos, os quais determinam os nove tipos de antígenos capsulares, (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII e VIII) (JELÍNKOVÁ, MOTLOVÁ, 1985; WESSELS et al., 1991; VON HUNOLSTEIN et al., 1993; KOGAN et al., 1996; VON HUNOLSTEIN et al., 1999) e por antígenos protéicos que se apresentam nas formas α e β . Esses componentes capsulares são fatores de virulência deste microrganismo. Os anticorpos opsonizantes dirigidos contra o EGB são específicos para cada sorotipo e, a ausência de anticorpos maternos contra esses antígenos tipo-específico constitui um fator de risco reconhecido para o desenvolvimento de doença por este patógeno no recém-nascido (FERRIERI, 1990).

Esta espécie, inicialmente reconhecida como agente etiológico da mastite bovina, começou a receber maior atenção a partir da década de 70, quando pesquisadores demonstraram o envolvimento do EGB com a primeira causa de sepse neonatal nos Estados Unidos, sendo assim finalmente reconhecida como causador de doenças em neonatos e adultos (BAKER, et al., 1973; BARTON, FEIGIN, LINS, 1973; FRANCIOSI, KNOSTMAN, ZIMMERMAN, 1973; McCracken, 1973; CDC, 2002).

O EGB faz parte da microbiota de membranas mucosas de seres humanos e animais, colonizando, principalmente, o trato intestinal e o geniturinário. É encontrado na mulher como

saprófita vaginal, incomum em crianças, podendo ser encontrado na adolescência tardia (CDC, 2002).

A colonização pelo EGB pode ser transitória, crônica ou intermitente e tem sido isolado em culturas do trato genital e/ou gastrointestinal baixo, em 10-40% das mulheres grávidas (GIBBS, SCHRAG, SCHUCHAT, 2004). Entretanto, a relevância médica deste microrganismo está na contaminação de recém-nascidos, nos quais pode ocasionar casos graves de septicemia, pneumonia e meningites (BAKER, 1973; CDC, 2002).

2.1.2 *Streptococcus agalactiae* e infecções

A incidência de infecções invasivas por *Streptococcus agalactiae* tem aumentado nos últimos anos entre pacientes adultos não gestantes, pacientes com idade avançada e imunodeprimidos. Na Espanha, há relatos de pacientes com diagnóstico de endocardite infecciosa por EGB (GRANGER et al., 2006; GEORGIEVA et al., 2010). No Brasil, foi descrito um caso de endocardite aguda por este microrganismo que evoluiu para óbito (JÚNIOR et al., 2005). Além disso, infecções pelo EGB em transplantados e hemodialisados tem sido notificadas com crescente incidência (SANTORO-LOPES, HALPERN, GONÇALVES, 2005).

Segundo Beraldo et al. (2004), o EGB é capaz de causar infecções no organismo materno como cistite, pielonefrite, endocardite, endometrite, celulites, sepse materna, puerperal ou não, além de comprometer a evolução da gestação, provocando aborto, morte fetal intra-uterina, corioamnionite, ruptura prematura de membranas e parto prematuro. Além disso, pode haver repercussão direta sobre o neonato, como baixo peso ao nascer e infecções no período pós-parto, como pneumonias, infecções cutâneas, ósseas ou articulares e meningite, podendo causar retardo mental, assim como perda de visão e audição nas crianças sobreviventes.

A infecção sistêmica por EGB apresenta duas formas de manifestação no recém-nascido: a) a doença de início precoce que deriva de transmissão vertical através da exposição ao EGB da vagina de uma mulher colonizada. Este tipo de infecção neonatal ocorre principalmente quando este patógeno ascende da vagina para o líquido amniótico após o início do trabalho de parto, ou pela ruptura de membranas, ou mesmo através da invasão de

membranas íntegras (CDC, 2002; QUENTIN, MORANGE-SAUSSIER, WATT, 2002; STRUS et al., 2009). O EGB pode ser aspirado para os pulmões do feto, que por sua vez pode levar à pneumonia e bacteremia. A infecção pelo EGB poder ser adquirida no momento da passagem da criança pelo canal do parto. Dessa maneira, a manifestação da doença ocorre nas primeiras 24 horas de vida, desencadeando pneumonia, sepse e, menos comumente, meningite e; b) a doença de início tardio, que se manifesta de 7 dias a 12 semanas de vida, podendo ser de origem materna ou nosocomial e caracterizada, principalmente, por meningite (CDC, 2002). Sequelas neurológicas ocorrem em cerca de 30 a 50% dos sobreviventes de meningite (CDC, 2002; QUENTIN, MORANGE-SAUSSIER, WATT, 2002; BEITUNE et al., 2005).

2.1.3 Prevalência de colonização por *Streptococcus agalactiae* em gestantes

Estudos que avaliam a taxa de colonização por EGB em gestantes têm sido realizados em todo o mundo e a prevalência encontrada é bastante variável: 8,6% no México (OCAMPO-TORRES et al., 2000); 10,6% na Turquia (ARISOY et al., 2003); 9,1% no Irã (JAHROMI, POORARIAN, POORBARFEHEE, 2008); 7,6% na Argentina (QUIROGA et al., 2008) e 34,9% em Portugal (AREAL et al., 2010).

Em estudo realizado na maternidade Sinhá Junqueira em Ribeirão Preto, São Paulo, em 1999 a prevalência foi de 17,9% (ZUSMAN, BALTIMARE, FONSECA, 2006). Já no período de 2002 a 2003, em uma maternidade pública de Londrina, Paraná, a prevalência foi de 14,9% (BERALDO et al., 2004). Em outro estudo, realizado no mesmo período, em Florianópolis, Santa Catarina, a prevalência de colonização foi de 21,6% (POGERE et al., 2005). No Rio de Janeiro foram encontradas taxas de prevalência de 19,2% no período de 2003 a 2004 (BORGER et al., 2005). No estudo realizado no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher, na Universidade Estadual de Campinas em 2003 e 2004, a taxa de colonização materna por EGB encontrada foi de 27,6% (NOMURA et al., 2009). Em São Luis, Maranhão, a prevalência foi de 20,4% no período de 2005 a 2006 (COSTA et al., 2008).

2.1.4 Fatores de risco para o desenvolvimento da doença de início precoce

Embora possam existir vários fatores de risco para a colonização materna pelo *Streptococcus agalactiae*, como a idade materna, paridade, estado conjugal, escolaridade e tabagismo, os resultados têm se mostrado inconsistentes em vários estudos (REGAN, KLEBANOFF, NUGENT, 1991; BERALDO et al., 2004; POGERE et al., 2005; BORGER et al., 2005; COSTA et al., 2008), não sendo possível selecionar um grupo de mulheres com elevada probabilidade de estarem colonizadas (REGAN, KLEBANOFF, NUGENT, 1991). Entretanto, tem se observado ocorrências em mulheres mais idosas, de baixa paridade, sem parceiro fixo e com baixa escolaridade (REGAN, KLEBANOFF, NUGENT, 1991; JOACHIM et al., 2009).

A colonização materna pelo EGB é o principal fator de risco para o desenvolvimento da doença de início precoce no recém-nascido (CDC, 2010). Mulheres grávidas e colonizadas pelo EGB são mais propensas a parir crianças que desenvolverão a doença de início precoce do que as mulheres grávidas com culturas negativas para EGB realizadas durante o pré-natal (BOYER, GOTOFF, 1985). A idade gestacional preconizada para a realização da cultura para identificação de portadoras do EGB é de 35^a a 37^a semanas de gestação, porque é o período no qual se demonstrou melhor sensibilidade e especificidade para detecção de mulheres que permanecem colonizadas por ocasião do parto (BOYER, et al., 1983; YANCEY, et al., 1996).

O EGB é encontrado na urina de 2% a 7% das mulheres grávidas (LISTON et al., 1979; WOOD, DILLON, 1981; MOLLER et al., 1984; PERSSON et al., 1986; MCKENNA, MATSON, NORTHERN, 2003). Bacteriúria positiva para EGB em uma mulher grávida é um marcador para colonização do trato genital e também está associada com um risco maior de desenvolver os sintomas da doença (LISTON et al., 1979; WOOD, DILLON, 1981; MOLLER et al., 1984; PERSSON et al., 1985; PERSSON et al., 1986; HEATH et al., 2009). Mulheres com bacteriúria positiva para EGB durante o primeiro trimestre de gestação, podem não ter a colonização vaginal-retal detectadas entre a 35^a a 37^a semanas de gestação (MCKENNA, MATSON, NORTHERN, 2003) ou no momento do parto (EDWARDS, CLARK, DUFF, 2002). No entanto, bacteriúria materna por este patógeno em qualquer

momento da gravidez é um fator de risco reconhecido para o desenvolvimento da doença de início precoce, sendo necessária a realização da quimioprofilaxia intra-parto (CDC, 1996).

2.1.5 Estratégias preventivas e terapêuticas intraparto para a prevenção da doença de início precoce desenvolvidas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)

Com o intuito de contornar este problema de saúde pública e reduzir a morbimortalidade neonatal pelo EGB, vem sendo instituídas estratégias preventivas e terapêuticas intraparto em diferentes países. Em 1996, o CDC desenvolveu um guia para a prevenção da doença provocada pelo *Streptococcus agalactiae* em associação com a Academia Americana de Pediatria e o Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia dos Estados Unidos da América. Neste guia, foram recomendadas duas estratégias para identificar parturientes colonizadas pelo EGB, com o objetivo específico de diminuir a incidência de infecção neonatal precoce. Essas estratégias consistiam em duas possíveis metas de ação: a) realização de cultura vaginal e retal entre as 35^a a 37^a semanas de gestação, estabelecendo profilaxia intraparto à todas as gestantes colonizadas pelo EGB; b) administração de quimioprofilaxia intraparto às gestantes que, não tendo sido submetidas a pesquisa de colonização pelo EGB, apresentassem algum dos fatores de risco para contaminação da criança, como tempo de ruptura de membrana maior ou igual a 18 horas, temperatura igual ou superior a 38°C durante o parto e/ou prematuridade (CDC, 1996).

Para a quimioprofilaxia antibiótica intraparto na prevenção da doença invasiva perinatal provocada por esta bactéria, o protocolo recomendou penicilina G, dose inicial 5 milhões de unidades, via intravenosa (IV), seguida de 2,5 milhões de unidades, IV, a cada 4 horas até o nascimento. Como alternativa ampicilina dose inicial 2 g, IV, seguida de 1 g, IV, a cada 4 horas até o nascimento. No caso de alergia materna à penicilina G, foram recomendados clindamicina e eritromicina (CDC, 1996).

Além disso, mulheres grávidas com bacteriúria sintomática ou assintomática positiva para EGB deveriam receber tratamento para infecção do trato urinário no momento do diagnóstico e no momento do parto, assim como as que, em gestações anteriores, deram à luz a crianças que desenvolveram doença invasiva por EGB, deveriam receber quimioprofilaxia intraparto, não havendo necessidade da triagem vaginal e retal no pré-natal (CDC, 1996).

Para a coleta das amostras e identificação do *Streptococcus agalactiae*, foi recomendada a utilização de *swabs* com meio de transporte para as coletas das amostras do intróito vaginal e do esfíncter anal, o qual deveriam ser inoculadas em um meio líquido seletivo suplementado com colistina (10 µg / mL) e ácido nalidíxico (15µg / mL) ou com gentamicina (8 µg / mL) e ácido nalidíxico (15 µg / mL) seguido, após 18-24 h de incubação, de subcultivo deste caldo em placa contendo meio ágar sangue (Tryptic Soy Agar (TSA)+5% de sangue de carneiro) e novamente incubado por mais 18-24 h. afim de serem realizadas as identificações presuntiva e específica das supostas colônias desenvolvidas. De acordo com pesquisas realizadas por Baker et al. (1988), o uso de meios seletivos contendo agentes antimicrobianos para inibir o crescimento de outros microrganismos pode aumentar em até 50% a positividade das culturas para esta bactéria. Para a identificação presuntiva foram recomendados os testes de bacterioscopia, da catalase, de CAMP (Christie, Atkins e Munch-Pertersen) e verificação da reação hemolítica das colônias em β-hemólise (prevalente), α-hemólise (raras) ou γ hemólise. Também foram recomendados, para a identificação específica, os testes de aglutinação ou outros testes para a detecção do antígeno EGB como, por exemplo, testes de sonda, genéticos ou anticorpo fluorescente (CDC, 1996).

Em 2002, houve uma atualização desse guia, dando-se prioridade à pesquisa de colonização pelo EGB quando comparado ao protocolo baseado nos fatores de risco, tendo em vista estudos que mostraram que essa estratégia foi mais eficaz para definir o uso da quimioprofilaxia antibiótica intraparto, principalmente levando-se em conta que grande parte das gestantes colonizadas não possui nenhum dos fatores de risco para infecção do neonato (CDC, 2002).

Embora os métodos recomendados para o isolamento e identificação deste patógeno, propostos pelo CDC em 1996, tenham permanecidos os mesmos, a partir de 2002 foi proposta a inclusão dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos clindamicina e eritromicina nas amostras positivas para EGB das gestantes com alto risco de anafilaxia à penicilina.

O correto processamento laboratorial das amostras para cultura é um dos fatores críticos na implantação bem sucedida da prevenção da doença invasiva perinatal pelo EGB. Para isso, o CDC elaborou um protocolo com procedimentos de coleta e processamento das amostras para cultura do EGB e teste de sensibilidade à clindamicina e à eritromicina.

Para a quimioprofilaxia antibiótica intraparto na prevenção da doença invasiva perinatal pelo EGB, o CDC manteve a recomendação de 1996 para penicilina G e ampicilina, ou seja, penicilina G, dose inicial 5 milhões de unidades, IV, seguida de 2,5 milhões de

unidades, IV, a cada 4 horas até o nascimento. Como alternativa, ampicilina dose inicial 2 g, IV, seguida de 1 g, IV, a cada 4 horas até o nascimento (CDC, 2002).

No caso de alergia materna à penicilina em pacientes com baixo risco para anafilaxia, foi recomendado cefazolina, dose inicial 2 g, IV, seguida de 1 g, IV, a cada 8 horas até o nascimento (CDC, 2002).

Para as pacientes com alto risco para anafilaxia, a recomendação foi de clindamicina, 900 mg, IV, a cada 8 horas até o nascimento, ou eritromicina, 500 mg, IV, a cada 6 horas até o nascimento (CDC, 2002).

Se resistência comprovada à clindamicina e eritromicina, ou susceptibilidade desconhecida, a recomendação foi utilizar vancomicina, 1 g, IV, a cada 12 horas até o nascimento (CDC, 2002).

Por ser a bacteriúria um marcador de colonização do trato genital, foi recomendado que mulheres grávidas com bacteriúria em qualquer concentração ou, as grávidas que anteriormente deram à luz a crianças que desenvolveram doença invasiva por EGB deveriam receber quimioprofilaxia intraparto, não havendo necessidade da triagem vaginal e retal no pré-natal (CDC, 2002).

Em novembro de 2010, foi publicada uma nova atualização deste guia. Procedimentos para coleta de amostras clínicas, para realização de culturas; alternativas de métodos laboratoriais para detecção do EGB; estabelecimento de um limite na contagem de colônias em uroculturas de mulheres grávidas; mudança na dose de penicilina G para a profilaxia antibiótica intraparto e atualização da profilaxia antibiótica destinada às mulheres alérgicas à penicilina, são as principais modificações ocorridas neste guia.

Mais recentemente, além dos meios líquidos seletivos como o padrão-ouro caldo Todd-Hewitt, suplementado com colistina (10 µg / mL) e ácido nalidíxico (15 µg / mL) ou com gentamicina (8 µg / mL) e ácido nalidíxico (15 µg / mL) (CDC, 2002), estão sendo utilizados ágar cromogênicos os quais mostram alteração de cor, quando da presença de colônias beta-hemolíticas do EGB (VOTAVA, et al. 2001; TAZI, et al. 2008). Essa mudança de cor pode ser verificada em meios líquidos e sólidos facilitando a detecção das cepas de EGB beta-hemolíticas. Porém, as cepas alfa-hemolíticas e gama-hemolíticas poderão não ser detectadas (DE LA ROSA, et al. 1992; CARVALHO, 2009). Outras técnicas, incluindo sondas de DNA e testes de reação em cadeia da polimerase (PCR), também foram recomendadas para detecção do EGB em mulheres grávidas (CDC, 2010).

Exames de rotina para bacteriúria assintomática devem ser realizados em todas as mulheres grávidas. Para isso, os médicos devem informar aos laboratórios que as uroculturas solicitadas são provenientes de gestantes. Por sua vez, os laboratórios devem reportar concentrações $\geq 10^4$ UFC/mL nas uroculturas de gestantes. (CDC, 2010).

Mulheres grávidas com bacteriúria positiva para EGB com concentrações $\geq 10^4$ UFC/mL, assim como as mulheres que, em gestações anteriores, deram à luz a crianças que desenvolveram doença invasiva devem receber profilaxia antibiótica intraparto para prevenir o aparecimento da doença de início precoce, não havendo assim, a necessidade da triagem nas 35^a a 37^a semanas de gestação durante o pré-natal (CDC, 2010).

Todas as mulheres grávidas devem ser rastreadas nas 35^a a 37^a semanas de gestação através da cultura vaginal e retal a fim de estabelecer profilaxia antibiótica intraparto a todas as gestantes colonizadas pelo EGB (CDC, 2010).

No momento do parto ou em caso de cesariana que apresenta ruptura de membranas no início do trabalho do parto, a profilaxia antibiótica intraparto deve ser dada a todas as mulheres colonizadas por EGB, exceto no caso de cesariana realizada antes do início do trabalho de parto com membranas intactas, pois, nestas condições, o risco do desenvolvimento da doença é extremamente baixo (CDC, 2010).

Quando os resultados da triagem para EGB não estiverem disponíveis durante o parto, a profilaxia antibiótica intraparto deve ser dada a mulheres com menos de 37 semanas de gestação ou com ruptura de membranas por um período maior ou igual há 18 horas, ou mulheres com febre maior ou igual a 38 °C (CDC, 2010).

A penicilina G continua a ser o agente de escolha para profilaxia antibiótica intraparto, com a ampicilina como uma alternativa aceitável (CDC, 2010).

Para a quimioprofilaxia antibiótica intraparto na prevenção da doença invasiva perinatal pelo EGB, o protocolo recomenda penicilina G, dose inicial 5 milhões de unidades, IV, seguida de 2,5-3,0 milhões de unidades, IV, a cada 4 horas até o nascimento. Como alternativa ampicilina dose inicial 2 g, IV, seguida de 1 g, IV, a cada 4 horas até o nascimento. O intervalo entre 2,5-3,0 milhões de unidades de penicilina G é recomendado para alcançar níveis adequados do fármaco na circulação fetal e líquido amniótico, para evitar neurotoxicidade (CDC, 2010).

Mulheres alérgicas à penicilina sem história de anafilaxia, angioderma, desconforto respiratório ou urticária após administração de penicilina ou cefalosporina devem receber

cefazolina, dose inicial 2 g IV, seguida de 1 g IV a cada 4 horas até o nascimento (CDC, 2010).

Mulheres alérgicas à penicilina com alto risco para história de anafilaxia devem receber clindamicina, 900 mg IV, a cada 8 horas até o nascimento. Essa conduta somente é indicada quando o EGB for sensível à clindamicina e à eritromicina no teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Caso o EGB seja sensível à clindamicina, mas resistente à eritromicina, a clindamicina pode ser utilizada se o teste resistência induzível à clindamicina for negativo (Teste-D), conforme CDC, 2010.

Mulheres alérgicas à Penicilina com alto risco para anafilaxia devem receber vancomicina, 1 g, IV, a cada 12 horas até o parto. Essa conduta somente é indicada quando houver resistência induzível à clindamicina, ou quando for desconhecida a sensibilidade de ambos os antimicrobianos (CDC, 2010).

Devido à resistência, a eritromicina não é mais uma alternativa aceitável para a profilaxia intraparto em mulheres colonizadas por EGB e alérgicas à penicilina com alto risco para anafilaxia (CDC, 2010).

2.1.6 Resistência do *Streptococcus agalactiae*

O uso difundido da profilaxia intraparto de antibióticos para prevenir o aparecimento precoce da doença EGB aumentou a preocupação sobre o desenvolvimento da resistência antibiótica entre isolados EGB (CDC, 2010).

Embora a maioria das cepas seja sensível à penicilina (BORGER et al., 2005; SIMÕES et al., 2007; JOACHIM et al., 2009), o aumento do uso de eritromicina e clindamicina, sobretudo em pacientes alérgicas a penicilina tem demonstrado crescimento nas taxas de resistência do EGB a esses antimicrobianos em vários países, inclusive no Brasil (BORGER et al., 2005).

Em estudo realizado no período de 1994 a 1999, no Rio de Janeiro, foram encontradas taxas de 5,4% e 1,1% de resistência à eritromicina e clindamicina, respectivamente, do EGB isolado de mulheres colonizadas (D'OLIVEIRA et al., 2003). Porém, nos últimos anos têm sido encontradas taxas superiores de resistência do EGB a estes fármacos em mulheres colonizadas por esta bactéria. Borger et al. (2005) encontrou 9,4% de resistência do *S.*

agalactiae à eritromicina e 6,2% à clindamicina e Costa et al. (2008) encontrou 23,6 e 25,4% de resistência a eritromicina e clindamicina, respectivamente. As proporções de EGB isolados com resistência *in vitro* à clindamicina e/ou eritromicina tem aumentado nos últimos 20 anos. Nos Estados Unidos aumentou de 25% para 32%, para eritromicina, 13% a 20% para clindamicina em relatórios publicados entre os anos de 2006 a 2009 (BORCHARDT et al., 2006; CASTOR et al., 2008; PHARES et al., 2008).

Diante desse problema, o CDC 2010 enfatiza a realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos clindamicina e eritromicina, Teste-D, que é um método disco-difusão duplo recomendado para testar resistência induzível à clindamicina em todas as gestantes colonizadas pelo EGB e alérgicas à penicilina G, conforme as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

2.1.7 Vacinas para a prevenção das doenças neonatais causadas por EGB

Estudos indicam que a susceptibilidade à doença neonatal por EGB é causada por deficiência de anticorpos anticapsular materna (BAKER, KASPER, 1976; BAKER, EDWARDS, KASPER, 1981). A imunização materna pode prevenir a doença periparto materna e a doença neonatal por transferência transplacentária de anticorpos IgG de proteção (BAKER et al., 1988). Pesquisas para o desenvolvimento de uma vacina conjugada a fim de promover a redução da colonização materna e prevenir a transmissão para recém-nascidos têm sido realizadas. Porém, nenhuma vacina está disponível atualmente (BAKER et al., 1988; SCHUCHAT et al., 1994; BAKER, KASPER, 1976). Os ensaios clínicos realizados nos EUA, encontram-se nas fases I e II, demonstrando que essas vacinas têm sido bem toleradas e imunogênicas (BAKER, et al., 2000; BAKER, EDWARDS, 2003). A produção de vacinas contra o EGB pode ser uma alternativa de substituição da profilaxia antibiótica intraparto a fim de prevenir as doenças neonatais causadas por EGB (BAKER et al., 1999).

3 PUBLICAÇÕES

3.1 Manuscrito

DETECTION AND CHARACTERIZATION OF *Streptococcus agalactiae* IN URINE CULTURES CARRIED OUT AT THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA FROM 2007 TO 2010.*

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Streptococcus agalactiae* EM UROCULTURAS REALIZADAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA NOS ANOS DE 2007 – 2010

Magda Cristina Souza Marques Roehrs¹, Rosiéli Martini¹, Tassiane Paz Mielke², Nara Lúcia Frasson Dal Forno³, Adenilde Salla³, Bettina Meneghetti³, Roselene Alves Righi³, Rosmari Hörner^{1,4}

1. Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2. Iniciação Científica, Laboratório de Bacteriologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 3. Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, RS. 4. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Endereço para correspondência: Dra. Rosmari Hörner. Laboratório de Bacteriologia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde,

Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, n.1000, Prédio 26, sala 1201, Bairro Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

Telefax: 55 55 3220-8751/e-mail: rosmari.ufsm@gmail.com

* Manuscrito a ser submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

ABSTRACT

Introduction: The isolation of *Streptococcus agalactiae*, also known as Group B Streptococcus (GBS), in clinical samples is becoming more frequent and it is associated with neonatal sepsis, puerperal infections, urinary tract infections as well as invasive infections in elderly people and immunosuppressed adults. **Methods:** This study aims at verifying the colonization occurrence levels of *S. agalactiae* in urine cultures from patients which were seen at the University Hospital of Santa Maria from 2007 until 2010. Furthermore, the antibiotic sensitivity profile, the clinical conditions, the age and gender were evaluated as well. **Results:** 34.898 cultures were carried out in this period and among all cultures positive, the GBS was isolated in 1,52% of the samples. An equal proportion was found in pregnant women and non-pregnant ones. 40,4% of these women presented a score of $\geq 10^5$ Colony – Forming Units per milliliter of urine (CFU/mL), 53,57% , between $\geq 10^4$ and $< 10^5$ CFU/mL and 6% had a score smaller than 10^4 CFU/mL. The GBS majority found (60% - 56 out of 94) was from medical clinic patients and all GBS analyzed were sensitive to penicillin and ampicillin. **Conclusion:** In this study, a significant frequency of *S. agalactiae* isolation was identified in urine cultures from pregnant women. Thus, it is suggested the urine culture test becomes part of the pre-natal procedures to detect the GBS colonization, and, as a result, the prophylaxis against the early and late-onset infection in newborns can be performed.

Keywords: *S. agalactiae*, urinary tract, infections, pregnant women.

RESUMO

Introdução: O isolamento do *Streptococcus agalactiae*, também conhecido como estreptococos do grupo B (EGB), em amostras clínicas é cada vez mais frequente e está envolvido como patógeno em sepse neonatal, puerperal, infecções do trato urinário e infecções invasivas em idosos e adultos imunodeprimidos. **Métodos:** O objetivo deste estudo foi detectar a frequência de isolamento do *S. agalactiae* em uroculturas de pacientes atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Maria nos anos de 2007 a 2010. Além disso, o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, as condições clínicas, a idade e o sexo dos pacientes também foram avaliados. **Resultados:** 34.898 uroculturas foram realizadas neste período e, entre todas as uroculturas positivas, o EGB foi isolado em 1,52% das amostras. Uma proporção igual foi encontrada em mulheres grávidas e não grávidas. 40,4% das mulheres, a contagem foi $\geq 10^5$ Unidades Formadoras de Colônias/mL, 53,57%, no intervalo de $\geq 10^4$ e $< 10^5$ UFC/mL e 6% com contagem menor que 10^4 UFC/mL. Todos os EGB analisados foram sensíveis à penicilina e ampicilina e a maioria dos EGB (60% - 56 de 94) era originária de pacientes ambulatoriais. **Conclusão:** Neste estudo identificamos uma significativa frequência de isolamento do *S. agalactiae* nas uroculturas de gestantes. Por este motivo sugerimos a realização da cultura de urina como exame pré-natal o que contribuirá na detecção da colonização do EGB auxiliando na prevenção da doença de início precoce e tardio em recém-nascidos.

Palavras-chave: *S. agalactiae*, trato urinário, infecções, gestantes.

INTRODUCTION

Streptococcus agalactiae, also known as of Group B Streptococcus (GBS), is part of the microbiota of human beings and animals mucous membrane mainly colonizing the intestinal and genitourinary tracts¹. The frequency of *Streptococcus agalactiae* isolation in clinical laboratory is frequent and this pathogen is associated with urinary tract infections (UTI), neonatal and post-natal sepsis².

The urinary tract infection caused by GBS can be asymptomatic bacteriuria, cystitis and pyelonephritis. Sometimes, the level of urosepsis is also reached³⁻⁸. Among these infections, the prevalence of cystitis is observed in elderly patients and the ones with low immunity, such as patients who received a transplanted organ, patients suffering from a type of cancer and the ones who have AIDS. The asymptomatic bacteriuria is prevalent in pregnant women^{7,9,10}.

This colonization in pregnant women favors the early-onset infection, and, due to the possibility of vertical transmission, the GBS may cause septicemia, meningitis and, with less frequency, pneumonia in newborns^{11,12}.

Even considering all the data previously mentioned, it was observed that there is not much data referring to the prevalence of GBS in urinary tract infections in adult population^{8,13,14}.

According to these findings, the manual *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) from 1996¹⁵, which is about control and prevention of perinatal disease caused by GBS, does not specify a significant limit of GBS Colony – Forming Units per milliliter (CFU/mL) in urine cultures from pregnant women. On the 2002 edition¹, the manual started recommending that clinical laboratories should report the GBS presence detected in urine culture of pregnant women in any concentration, however, this recommendation represented an increase of work and of cost to the laboratories which frequently do not inform the growth

of microorganisms in concentrations smaller than 10^4 CFU/mL¹⁶. Moreover, in many cases, it is not registered if the woman is pregnant or not. This fact made many clinical laboratories adopt, as a routine procedure, the GBS research and report of any CFU/mL number found in urine cultures from women in reproductive age.

Data from studies which report the development of the early-onset disease in newborns refers to women who presented GBS bacteriuria with urine bacterial growth of $\geq 10^5$ CFU/mL¹⁷⁻¹⁹, and concentrations smaller than 10^4 CFU/mL may be associated with the rectal-vaginal colonization in the women²⁰. The available data concerning the development of this disease is little¹⁸, however, in a present-day study carried out by Weng et al. (2010) in Utah, United States, it was concluded that there is a high development risk of early-onset disease in children from women with low score of CFU/mL in urine cultures, when compared to newborns from women who presented bacteriuria caused by GBS²¹.

The latest CDC edition²² recommends that laboratories should report the GBS presence in concentrations of $\geq 10^4$ CFU/mL, or higher, found in the urine culture from pregnant women. This recommendation aims at preventing the newborn contamination and the intrapartum antibiotic prophylaxis can be immediately applied. Urine cultures for asymptomatic bacteriuria research are recommended to all pregnant women²³ and the GBS investigation through screening allows the detection of women with potential transmission risk of GBS to their newborns²².

Besides all diseases previously mentioned, the urinary tract infection caused by GBS may contribute to chorioamnionitis²⁴ and provoke a preterm birth²⁵. Some studies have reported high GBS rates in urinary tract infection in non-pregnant women as well^{7,9,10,26}.

Consequently, the current study aimed at detecting the prevalence of GBS isolation in urine culture samples from patients seen at the medical clinic and also from patients who were

in hospital in the period between 2007-2010, at the University Hospital of Santa Maria (HUSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

METHODS

Through a retrospective study of urine cultures carried out at HUSM, between January 2007 and December 2010, considering medical clinic patients as well as the in hospital ones, who were 1 year old or older; 34,898 urine cultures were carried out.

These cultures were processed according to the methodology described on the Standard Operating Procedures of the Clinical Analysis Laboratory of HUSM, with quantitative culture, where the samples were cultured through the method of calibrated loop of 0,01 mL (10 µL), in Cystine Lactose Electrolyte Deficient agar or Brolacin and in agar MacConkey (no centrifuged urine, medium discharge). When the screening was made (bacterioscopy – Gram method), gram-positive coccus was observed and the sample was also cultured in blood agar (5% of sheep blood). The temperature of the incubation was 35 °C ± 2°C and it was carried out per 24-48 h, and after primary isolation, bacterial identification tests were made to ascertain the profile sensitivity to the antimicrobial using the automation (MicroScan® – Siemens) and following the instructions of the *Clinical and Laboratory Standards Institute*²⁷⁻³⁰.

ETHICS

The current work was approved by the Ethics and Research Committee of the Federal University of Santa Maria (UFSM), in November 2008 under number 0235.0.243.000-08.

RESULTS

Among the 34,898 urine cultures carried out between January 2007 until December 2010, 6,190 (17,74%) were positive. The cultures that presented scores equal to 10^5 CFU/mL or higher were considered as positive and clinical criterion was used to the cultures which presented scores smaller than 10^5 CFU/mL.

In the positive samples, the *S. agalactiae* was identified in 1,52% (94 out of 6,190) and the year of higher GBS frequency was 2007 as it can be seen in Figure 1.

When considering the gender, 89.4% of the positive samples for *S. agalactiae* (84 out of 94) were from women, in which 43.6% (41 out of 84) were pregnant, and 10.6% were positive urine culture from men (Figure 2).

The medical clinic was the HUSM sector where the biggest number of isolations (60%) was identified, followed by the Obstetric Centers (31%) (Figure 3).

In the positive cultures from men, 50% (5 out of 10) had a score of $\geq 10^5$ CFU/mL, 50% had the scores of (5 out of 10) 10^4 CFU/mL - 10^5 CFU/mL. The GBS CFU/mL number of urine from women was distributed as below:: 6% (5 out of 84) with a score smaller than 10^4

CFU/mL, 23.8% (20 out of 84) between $\geq 10^4$ and $< 5,0 \times 10^4$ CFU/mL, 29.8% (25 out of 84) between $\geq 5 \times 10^4$ and $< 10^5$ CFU/mL and 40.4% (34 out of 84) $\geq 10^5$ CFU/mL. As a result, 41.5% (39 out of 94) of the urine cultures presented a score of $\geq 10^5$ CFU/mL.

The majority of GBS isolated were from men with renal insufficiency (4 out of 10). Approximately 50% of the GBS were from women (41 out of 84) who were pregnant (Table 1), and among these pregnant women, 9.75% (4 out of 41) had AIDS.

All GBS were tested, and all of them presented sensitivity to penicillin and ampicillin (Table 2).

All analyzed strains were sensitive to the antimicrobials daptomycin and linezolid.

DISCUSSION

S. agalactiae is the main agent of infections in newborns and in babies until they reach 3 months old³¹.

Moreover, it can cause serious infections in adults and pregnant women although it is more invasive in elderly people (60 years old or more) who already have an underlying disease⁶. Many studies suggest that the GBS isolation in urine culture may be associated to high pathologic rates in the urinary tract (renal stone and prostate hypertrophy) among other serious diseases as: cirrhosis, chronic renal insufficiency, and diabetes mellitus^{4,32}. Seven

patients with renal insufficiency (4 men and 3 women) presented 7.4% of isolated GBS in our study.

Among all tests solicited from patients, the urine culture is the most requested bacteriological one in Clinical Microbiology laboratories³³. According to Caetano et al.(2004)², in one study carried out at a University Hospital in Buenos Aires an index of 17.5% of positive urine cultures was found. Ramos et al.(2006)³³, in a study carried out at the Centro de Referência Diagnóstica do Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Brazil, found 15% of positivity (Ramos et al.,2006), and Hörner et al.(2008)³⁴, in her study carried out at HUSM, Santa Maria, Brazil, found 16.36% of positive urine cultures and Polleto and Reis (2005), in the city of Goiânia-GO, considered 17,6% of the urine cultures from medical clinic patients as positive. In this study, carried out for 4 years, 17.74% of the urine cultures were considered positive.

Analyzing other studies from the 80's, concerning the prevalence of GBS in urinary tract infections in pregnant women, they report indexes between 2% to 7%^{17,19,25,36}. However, according to current research in the United States, rates between 1% and 3.5 % are reported^{8,13,14}. Our study found 1.52% of prevalence of *S. agalactiae* in urine cultures, what is in agreement with the studies carried out by Ulett et al. (2009)³⁷, at the University Hospital of Alabama, US, where the GBS isolation was found in 1.1% (387 out of 34,367) of the urine samples from adult patients; besides this, our results are in agreement with the studies carried out in Argentina (Caetano et al. 2004)², Sweden (Persson et al. 1988)³² and in London Mhalu (1977)³⁸, which found the prevalence of 1%.

In this study, 89.4% of positive GBS were from women. Hernáiz et al. (2004)³¹, in Madrid, reported a higher incidence (92.9%) of *S. agalactiae* positive urine cultures which were from women and, 20% were pregnant. Among all women in our study, 43.6% were pregnant; similar result was found by Ramos et al. (2006)³³, which was 51%. Considering the

studies of Caetano et al. (2004)², and Hernáiz et al. (2004)³¹, the GBS prevalence in pregnant women was 28.4% and 21.5%, respectively.

The urinary tract infection is characterized by the bacterial growth of at least 10^5 CFU/mL at medium discharge of urine collected in an aseptic way (Kass, 1956)³⁹. When analyzing the urine from elderly patients with chronic infection and when there is antimicrobial use, $\geq 10^4$ CFU/mL^{40, 41} can be considered as the score for bacterial growth. In this study, the predominant CFU/mL was $\geq 10^5$ for men and women.

In women, the GBS is associated with intrauterine infections, endometritis, postpartum fever, urinary infection and bacteraemia. The vertical transmission to the newborn happens between 29 to 70% of all cases although not all newborns develop the infection⁴². In 2009, when a research was carried out at HUSM, tracking pregnant women who were between the 35th and 37th week`s pregnant, the predominance of vaginal or rectal GBS colonization was 11.11%⁴³.

When analyzing the clinical conditions (except pregnancy) of the patients, 31.9% presented some chronic disease or immunosuppression. The study of Hernáiz et al. (2004)³¹ found similar numbers for the same conditions (26.4%).

In our study, all strains tested to penicillin and ampicillin were sensitive; only one strain tested to clindamycin showed resistance. Three strains presented resistance to levofloxacin and one remained intermediate. Mhalu (1977)³⁸ verified that some patients had recurrent urinary tract infections, even receiving the adequate treatment with ampicillin and sulfamethoxazole with trimethoprim, antimicrobial agents which show *in vitro* sensitivity.

A significant frequency of *S. agalactiae* isolation was identified in urine cultures from pregnant women, so it is necessary to be careful when isolating it in urine samples from pregnant women because there is not conclusive studies concerning the vertical transmission in concentrations smaller than 10^4 CFU/mL. Therefore, with the purpose of assuring solid

results proposed by the CDC (2010) to prevent the early-onset infection, physicians should inform the laboratories that the urine cultures requested are from pregnant women. Consequently, laboratories should report $\geq 10^4$ CFU/mL concentrations in the urine cultures from pregnant subjects. Due to all reasons previously mentioned, we suggest that the urine culture should be one of the prenatal tests because it will contribute to detect the GBS colonization helping to prevent the early and late-onset infection in newborns.

AKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Clinical Analysis Laboratory team of the University Hospital of Santa Maria (HUSM) / RS.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that there was no conflict of interests during the development of this study.

FINANCIAL SUPPORT

Financial support was granted by the Post-Graduation Program in Pharmaceutical Sciences of the Federal University of Santa Maria (PPGCF / UFSM), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE).

REFERENCES

01. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Revised Guidelines from CDC. Morbid Mortal Wkly Rep 2002; 51(RR11):1-22.
02. Caetano JV, Larre S, Lopreto C. Detección y caracterización de *Streptococcus agalactiae* en muestras para urocultivo. Acta Bioquím Clín Latinoam 2004; 38(4):459-463.
03. Lefevre JC, Lepargneur JP, Bauriaud R, Bertrand MA, Blanc C. Clinical and microbiologic features of urethritis in men in Toulouse, France. Sex Transm Dis 1991; 18(2):76-79.
04. Muñoz P, Coque T, Créixems MR, Quirós JCB, Moreno S, Bouza E. Group B Streptococcus: a cause of urinary tract infection in nonpregnant adults. Clin Infect Dis 1992;14:492-496.
05. Bronsema DA, Adams JR, Pallares R, Wenzel P. Secular trends in rates and etiology of nosocomial urinary tract infections at a university hospital. J Urol 1993; 150:414-416.
06. Farley MM, Harvey RC, Stull T, Smith BS, Schuchat MD, Wenger MD, et al. A population-based assessment of invasive disease due to group B Streptococcus in nonpregnant adults. N Engl J Med 1993; 328:1807-1811.
07. Edwards MS, Baker CJ. Group B streptococcal infections in elderly adults. Clin Infect Dis 2005; 41:839-847.
08. McKenna DS, Matson S, Northern I. Maternal group B streptococcal (GBS) genital tract colonization at term in women who have asymptomatic GBS bacteriuria. Infect Dis Obstet Gynecol 2003; 11:203-207.

09. Falagas ME, Rosmarakis ES, Avramopoulos I, Vakalis N. *Streptococcus agalactiae* infections in non-pregnant adults: single center experience of a growing clinical problem. *Med Sci Monit* 2006; 12:447-451.
10. Muller AE, Oostvogel PM, Steegers EA, Dörr PJ. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85:1027-1037.
11. Baker CJ, Barrett FF. Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. *J Pediatr* 1973; 83:919-925.
12. Yow M. Group B streptococci: a serious threat to the neonate. *JAMA* 1974; 230(8):1177-1178.
13. Baker CJ Group B streptococcal infections. *Clin Perinatol* 1997; 24(1):59-70.
14. Whitney CG, Daly S, Limpongsanurak S, Festin MR, Thinn KK, Chipato T, et al. The International Infections in Pregnancy study: group B streptococcal colonization in pregnant women. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 15:267-274.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. *Morbidity Mortal Wkly Rep* 1996; 45:1-24.
16. McCarter YS, Burd EM, Hall GS, Zervos M. *Cumitech 2C: laboratory diagnosis of urinary tract infections*. Washington, DC: ASM Press; 2009.
17. Wood EG, Dillon Jr HC. A prospective study of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140(5):515-520.
18. Persson K, Christensen KK, Christensen P, Forsgren A, Jörgensen C, Persson PH. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy with special reference to group B streptococci. *Scand J Infect Dis* 1985; 17:195-199.
19. Persson K, Bjerre B, Elfström L, Polberger S, Forsgren A. Group B streptococci at delivery: high count in urine increases risk for neonatal colonization. *Scand J Infect Dis* 1986; 18:525-531.

20. Centelles-Serrano MJ, Pérez-Moreno MO, Llovet-Lombarte MI, Cortell-Ortolá M, Jardí-Baiges AM, Buj-González JI. Effectiveness of systematic investigation for group B *Streptococcus* in urine samples to identify colonized pregnant women. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27(7): 394-398.
21. Weng C, Korgenski K, Sheng X et al. Pregnancy outcomes in women with group B streptococcal bacteriuria. Annual Meeting of the Pediatric Academic Societies, Vancouver, Canada; May 1-4; 2010.
22. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Revised Guidelines from CDC. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2010; 59:1-32.
23. Lin K, Fajardo K, U.S Preventive Services Task Force. Screening for asymptomatic bacteriuria in adults: evidence for the U.S. Preventive Services Task Force reaffirmation recommendation statement. *Ann Intern Med* 2008; 149:W20-24.
24. Anderson BL, Simhan HN, Simons KM, Wiesenfeld HC. Untreated asymptomatic group B streptococcal bacteriuria early in pregnancy and chorioamnionitis at delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196(6):524.e1-.e5.
25. Moller M, Thomsen AC, Borch K, Dinesen K. Rupture of fetal membranes and premature delivery associated with group B streptococci in urine of pregnant women. *Lancet* 1984; 2:69-70.
26. Toumi A, Ferjani A, Abdallah HB, Boukadida J. *Streptococcus agalactiae* in nonpregnant adults. *Tunis Med* 2006; 84(3):161-164.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Wayne (PA), USA: CLSI; 2007.

28. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement. CLSI document M100-S18. Wayne (PA), USA: CLSI; 2008.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S19. Wayne (PA), USA: CLSI; 2009.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI document M100-S20. Wayne (PA), USA: CLSI; 2010.
31. Hernáiz C, Antón N, Alós JI, Orden B, Orellana MA, Colomina J, et al. Significado clínico del aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de urina de pacientes de centros de salud. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22(2):89-91.
32. Persson KM, Grabe M, Kristiansen P, Forsgren A. Significance of group B streptococci in urine cultures from males and non-pregnant females. *Scand J Infect Dis* 1988; 20(1):47-53.
33. Ramos TZ, Pizzolitto EL, Pizzolitto AC. Uso do teste com cloridrato de trifetil tetrazólio (CTT) para detecção de bacteriúria sintomática e assintomática. *Rev Bras Anál Clín* 2006; 38(3):197-199.
34. Hörner R, Kocourek GED, Domingues VO, Rigatti F, Bertoncheli CM, Paraguinski GL. Comparação de métodos de triagem para detecção de bacteriúria em amostras do Bairro Maringá e do Hospital Universitário de Santa Maria. *Rev. Saúde* 2008; 34a(1-2):16-21.
35. Poletto KQ e Reis C. Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes ambulatoriais na cidade de Goiânia, GO. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005, vol. 38, n. 5, PP.416-420.

36. Liston TE, Harris RE, Foshee S, Null DM,Jr. Relationship of neonatal pneumonia to maternal urinary and neonatal isolates of group B streptococci. *South Med J* 1979;72:1410-1412.
37. Ulett KB, Benjamin WH Jr, Zhuo F, Xiao M, Kong F, Gilbert GL, et al. Diversity of Group B Streptococcus Serotypes Causing Urinary Tract Infection in Adults. *J Clin Microbiol* 2009; 47(7):2055-2060.
38. Mhalu FS. *Streptococcus agalactiae* in urinary tract infections. *Postgrad Med J* 1977; 53(618):216-218.
39. Kass EH. Assintomatic infections of the urinary tract. *Trans Assoc Am Physicians* 1956; 69:56-64.
40. Orenstein R, Wong ES. Urinary tract infections in adults. *Am Fam Physician* 1999; 59(5):1225-1234.
41. Fihn SD. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. *N Engl J Med* 2003; 349:259-266.
42. Evaldson G, Heimdahl A, Kager L, Nord CE. The normal human anaerobic microflora. *Scand J Infect Dis* 1982; 35:9-15.
43. Veit AR, Hörner R, Roehrs MCSM, Mayer LE, Santos SO, Martini R, et al. Colonization prevalence and susceptibility of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women at HUSM. *Rev. Saúde* 2010; 36(1), Jan./jun.

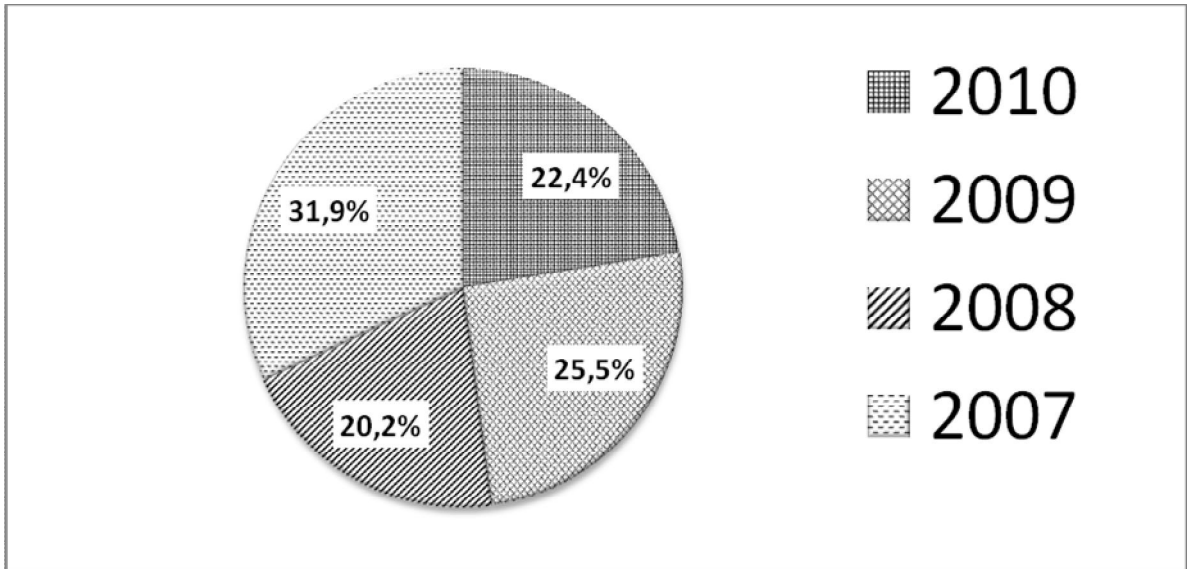


Figure 1. Percentage of positive urine cultures with *S. agalactiae* isolation in the period of 2007 - 2010 at HUSM.

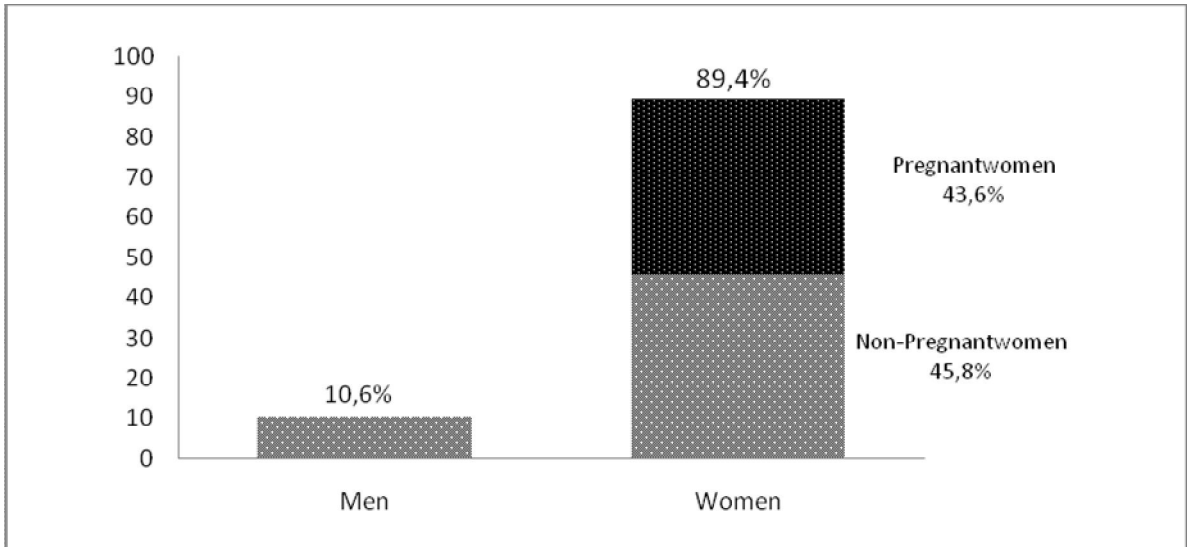


Figure 2. Positive urine cultures distribution with *S. agalactiae* isolation between men and women in the period between 2007 - 2010 at HUSM.

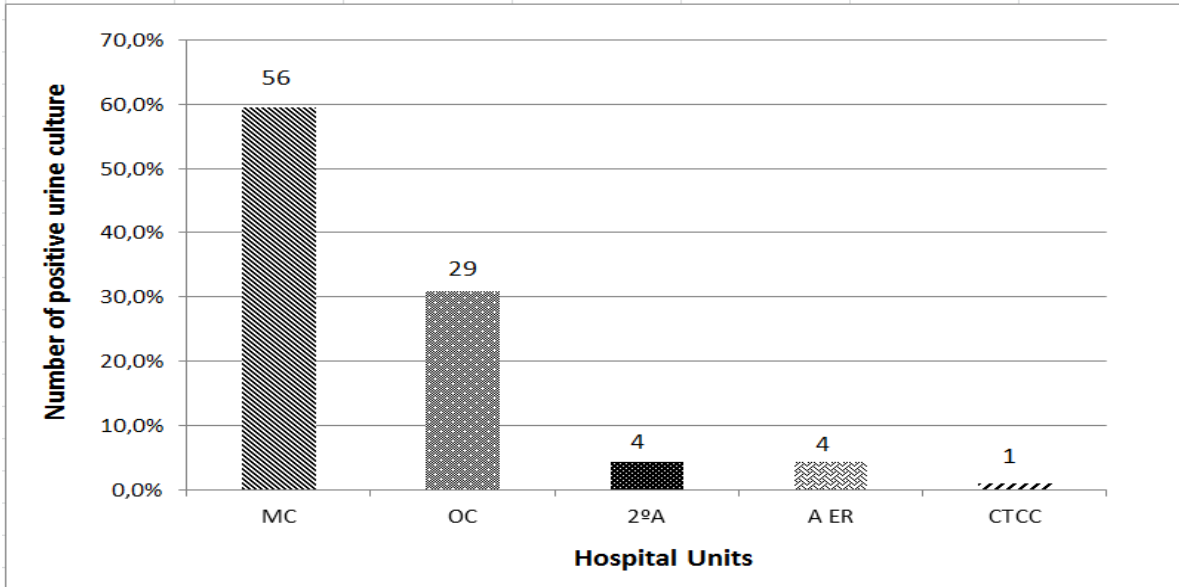


Figure 3. Positive urine cultures prevalence with *S. agalactiae* isolation in the period between 2007 - 2010 according to HUSM units.

MC = Medical Clinic, OC = Obstetric Center, 2ª A= Gynaecological Center; A ER= Adult Emergency Room, CTCC=Center for Treatment of Children with Cancer

Table 1: Clinical Conditions of the patients with positive urine culture in the period of 2007 to 2010.

Clinical Conditions	Gender		Total (%)
	Male	Female	
Pregnancy	-	41	43,6
Chronic Renal Insufficiency	4	3	7,4
Systemic High Blood Pressure	0	5	5,3
Recurrent Urinary Tract Infection	1	3	4,3
Diabetes Mellitus (DM)	0	3	3,2
Renal Transplantation	1	2	3,2
Rheumatoid Arthritis	0	2	2,1
Pre-operation	0	1	1,1
Hepatitis	0	1	1,1
Endometriosis	0	1	1,1
Non-reported	4	22	27,6
Total	10	84	100

Table 2: Sensitivity Profile of the positive urine cultures with *S. agalactiae* isolation in the period of 2007 - 2010.

Antimicrobial	Number of urine cultures	Sensitivity Profile		
		Resistant	Intermediate	Sensitive
Penicilline	89	-	-	89
Ampicilline	66	-	-	66
Clindamycin	64	1	-	63
Levofloxacin	92	3	1	88
Vancomycin	21	-	-	21

3.2 Artigo

COLONIZATION PREVALENCE AND SUSCEPTIBILITY OF *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* IN PREGNANT WOMEN AT HUSM

Adriane Regina Veit*
 Rosmari Homer**
 Magda Cristina Souza Marques Roehrs**
 Leticia Eichstaedt Mayer**
 Silvana Oliveira Santos**
 Rosieli Martini**
 Máisa Kräulich Tizotti**
 Cláudia Barbisan Kempfer**
 Vanessa Rodrigues Martins**
 Lisete Fronza**
 Melissa Dias Costa Cunha**
 Paola Roehrs Colpo**
 Cristine Kolling Konopka**

ABSTRACT

The *Streptococcus agalactiae* colonization prevalence and its susceptibility to antimicrobials in pregnant women at University Hospital of Santa Maria (HUSM) were evaluated from June to December 2009. The vaginal-rectal material was inoculated into tubes containing Todd-Hewitt broth with subsequent subculture on blood agar. The GBS identification was made through presumptive tests, confirmed by serological test and its susceptibility was evaluated. The occurrence of GBS maternal-fetal transmission in the colonized pregnant women was researched. The GBS colonization was 11.11%. All strains were susceptible to penicillin, ampicillin, and vancomycin. Two strains (50%) were intermediate to clindamycin and one (25%) intermediate to erythromycin. A newborn whose mother was colonized had early-onset neonatal infection by GBS. By this, it is very important the research about the colonization by GBS in all pregnant women from 35 to 37 weeks of gestation and the use of intrapartum antibiotic prophylaxis for colonized pregnant women.

Descriptors: *Streptococcus agalactiae*; Prevalence; Pregnant women; Newborns; Microbial Sensitivity Tests.

RESUMO

Avaliou-se a prevalência de colonização pelo *Streptococcus agalactiae* e o seu perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos em gestantes no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), de junho a dezembro de 2009. O material vaginal-retal foi inoculado em tubos contendo caldo Todd-Hewitt com posterior subcultura em ágar sangue. A identificação do EGB foi realizada através de testes presuntivos, confirmadas por teste sorológico e avaliado seu perfil de sensibilidade. Pesquisou-se ocorrência de transmissão materno-fetal do EGB nas gestantes colonizadas. A prevalência de colonização foi de 11,11%. Todas as cepas foram sensíveis à penicilina, ampicilina e vancomicina. Duas cepas (50%) foram intermediárias à clindamicina e uma (25%) intermediária à eritromicina. Um recém-nascido de mãe colonizada teve infecção neonatal de início precoce por EGB. Confirma-se a importância da pesquisa de colonização por EGB em todas as gestantes entre 35ª e 37ª semana de gestação e uso de quimioprofilaxia intraparto nas gestantes colonizadas.

Descritores: *Streptococcus agalactiae*; Prevalência; Gestantes; Recém-nascido; Testes de Sensibilidade Microbiana.

INTRODUCTION

Streptococcus agalactiae or group B streptococcus (GBS) is a normal inhabitant of the gastrointestinal tract and may colonize the vagina chronically or intermittently in about a third of women. The colonized pregnant women are usually asymptomatic, but the GBS is responsible for 2-4% of

urinary infections during pregnancy.¹ In pregnancy and puerperium this colonization may compromise the amnion, endometrium and abdominal wall, leading to abortion and prematurity.^{2,3}

Around 50 to 75% of neonates exposed to GBS intravaginal become colonized and 1 to 2% of all newborns of positive mothers will develop early-onset invasive disease.^{4,6} Neonatal invasive infections by

* Estudante do curso de Farmácia, bolsista de iniciação científica no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Análises Clínicas Toxicológica do Centro de Ciências da Saúde da UFSM

** Universidade Federal de Santa Maria

S. agalactiae are more common than other well-known neonatal diseases such as rubella, syphilis and spina bifida.¹

Systemic infection by GBS has two manifestations in the newborn: a) the early-onset disease, which derives from vertical transmission or through the aspiration of contaminated amniotic fluid^{4,7}, and it manifests itself in the first 24 hours of life, causing pneumonia, sepsis, and, less commonly, meningitis^{1,8,9} and b) the late-onset disease, which manifests itself from 7 days to 12 weeks of life and it may be of maternal or nosocomial origin and characterized mainly by meningitis.¹ Neurological sequelae occur in approximately 30-50% of meningitis survivors.^{4,9}

The presence of maternal colonization prevalence between 15 and 25% places Brazil in a level of concern when considering the possibility that high rates of early-onset neonatal infection are occurring without being identified,¹⁰ as there are no manuals or technical recommendations on the theme in the country.¹¹

Our objective was to assess the prevalence of vaginal and/or rectal colonization by *S. agalactiae* and its susceptibility to antimicrobials in pregnant women from 35 to 37 weeks of gestation who were treated at University Hospital of Santa Maria (HUSM) in Santa Maria, RS.

MATERIAL AND METHODS

This is a cross-sectional, prospective and retrospective, active and passive study in which we assessed the colonization prevalence and susceptibility of GBS in 36 pregnant women treated at the Obstetric Center (OC) of HUSM from June to December 2009. The study included women from 35 to 37 weeks of gestation + 6 days with intact membranes. The exclusion criteria were the presence of vaginitis, AIDS, HIV positive and who received antimicrobial therapy in the last 15 days.

The participants were informed about the objectives and procedures of the study and signed a consent form. The study was approved by the Ethics Committee on Human Beings of the Federal University of Santa Maria (UFSM) in May 2008, under number 0235.0.243.000-08.

The sample collection was performed by the team

of HUSM OC, following the guidelines of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC).¹ With sterile swabs samples were collected vaginal (vaginal opening) and a rectal examination (insertion of the swab through anal sphincter) and inoculated separately into two test tubes containing Todd-Hewitt selective broth medium plus gentamicin (8µg/mL) and nalidixic acid (15µg/mL). All samples were properly identified and sent to the Laboratory of Bacteriology, Building 26, Room 1201, Center for Health Sciences, Department of Clinical and Toxicological Analysis of UFSM to be processed.

The selective broths were incubated in a 5% CO₂ for 18 to 24 hours at 35±2° C and subcultured on blood agar under the same conditions of incubation. After 24 hours, the plates were identified as suggestive of *S. agalactiae* by colonial morphology (gray, surrounded by a discrete halo of hemolysis total, non-hemolytic or alpha-hemolytic), Gram stain (gram positive), ability to produce catalase (catalase negative), bile esculin (negative) and CAMP factor (positive). For confirmation, serology was performed using the latex agglutination with PASTOREX™ STREP kit (Bio-Rad).

The antimicrobial susceptibility of isolates was performed using disc diffusion method, as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).¹² We tested the antibiotic ampicillin, cefotaxime, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, penicillin and vancomycin.

For the research on the inducible resistance to clindamycin to be made, erythromycin and clindamycin disks were placed at a distance of 20mm disc to disc (Test D). The positivity of this test is viewed by the flattening of the halo of clindamycin.

When there was a confirmation of maternal colonization by *S. agalactiae*, a passive assessment was made with the records in order to detect the occurrence of early-onset or late-onset neonatal infection in these women's newborns through positive blood culture and/or cerebrospinal fluid (CSF) and the evolution of this patient was assessed.

RESULTS

From 36 women included in the study, four of them had vaginal and/or rectal culture GBS-positive,

resulting in a prevalence of 11.11%. Tests for the presumptive identification of *S. agalactiae* in these women are depicted in Table 1.

The antimicrobials tested are listed in Table 2 with the group which they belong, according to CLSI 2010: Group A (first choice, tested and reported in the

routine), group B (first choice, tested and reported selectively, especially important agents in nosocomial infections), group C (additional and reported selectively, alternative agents when there are strains resistant to multiple primary drugs). All of them showed D test negative.

TABLE 1 - Tests results for *S. agalactiae* identification in colonized pregnant women

Pregnant Woman (n°)	Catalase	Bile esculin	Hemolysis	CAMP	Serology
5	-	-	β	-	+
7	-	-	β	-	+
34	-	-	β	+	+
35	-	-	γ	-	+

(+) positive; (-) negative

TABLE 2 - Susceptibility to antimicrobials of four pregnant women with culture vaginal and/or rectal GBS-positive

Pregnant woman (n°)	AMP (A)	CTX (B)	CLI (A)	ERI (A)	LEV (C)	PEN (A)	VAN (B)
5	S	S	I	I	S	S	S
7	S	S	I	S	S	S	S
34	S	S	S	S	S	S	S
35	S	S	S	S	S	S	S

AMP = ampicillin, CTX = cefotaxime, CLI = clindamycin, ERI = erythromycin, LEV = levofloxacin, PEN = penicillin, VAN = vancomycin. S = Susceptible, I = Intermediate.

In a newborn whose mother was colonized with GBS the occurrence of early-onset neonatal infection was observed. The baby was born with prematurity and prolonged delivery, he needed resuscitation and he was transferred to ICU. He was diagnosed with meningitis caused by *S. agalactiae*, isolated from blood culture and CSF, and he was treated with ampicillin (1/40 16mL IV 12/12h) and gentamicin (40/20 5.5 mL IV 24/24h). He was discharged after 18 days.

DISCUSSION

Among the tests performed according to conventional methodology for identification of GBS, the CAMP test is one of the most sensitive.¹³ This test is based on production of a diffusible hemolysin by most strains of GBS, which together with other hemolysin produced by *Staphylococcus aureus* ?-hemolytic strains

(ATCC 25923) causes complete lysis of red blood cells from blood agar plate and produces a characteristic zone of hemolysis in the form of arrowheads, called factor CAMP.^{6,13} In our tests only one sample was positive for the presence of CAMP factor, demonstrating a low sensitivity for identifying GBS isolated in this study. Other identification tests had results which were consistent with the literature.¹³

The prevalence of maternal GBS colonization varies from 5 to 40% concerning some factors such as the gestation period in which cultures are performed, the collection site, the bacteriological methods used to detect GBS and the origin and characteristics of the population studied.^{1,2,10}

In this study we chose to search GBS both vaginal and rectal sites, as there are reports that the colonization rate increases from 5 to 25% when the

sample is collected in more than one site.¹ Simões et al. (2007) demonstrated that 56.5% of colonized pregnant women would not be identified if there was only the rectal sample, and in case of only vaginal sample, in 20% of women this colonization would not be diagnosed.¹⁴

Since 2002, the CDC emphasizes the universal search for GBS colonization rather than the protocol based on risk factors, once studies showed that this strategy was more effective to define the use of intrapartum chemoprophylaxis, especially taking into account that many colonized pregnant women did not have risk factors for newborn infection.^{1,5,14,15}

In this context, studies that evaluate the rate of GBS colonization have been performed worldwide and the prevalence rates are variable: 8.6% in Mexico in 1999;¹⁶ 10.6% in Turkey in 2000,¹⁷ 9.1% in Iran in 2003,⁵ 7.6% in Argentina between 2004 and 2006.¹⁸

In Brazil, these rates have become even higher. In a study conducted between 2002 and 2003, in a public maternity hospital in Londrina – Paraná, a prevalence of 14.9% was found.² Another one conducted in the same period in Florianópolis - Santa Catarina presented a GBS colonization of 21.6%.¹⁹ In Rio de Janeiro prevalence rates of 19.2% were found from 2003 to 2004.²⁰ A study accomplished at the Center for Integral Attention to Women's Health at the University of Campinas in 2003 and 2004 found the rate of maternal GBS colonization of 27.6%.⁶ In São Luis - Maranhão, the prevalence was 20.4% from 2005 to 2006.¹⁰ The present study showed a colonization rate of slightly lower than the national ones (11.11%).

The currently recommended prophylaxis for the prevention of neonatal disease is the use of intrapartum antibiotics only for women colonized by GBS. CDC indicates penicillin as the first choice drug for intrapartum antibiotic prophylaxis (5 million U IV then 2.5 million U 4/4h until delivery) and treatment of neonatal infection by *S. agalactiae* (200 to 500,000 U/kg/day) in association with gentamicin.^{1,21,22} Ampicillin can be used alternatively. Erythromycin and clindamycin are the drugs of choice for prophylaxis in women colonized by GBS who are allergic to penicillin.¹

Although most strains are susceptible to penicillin,^{14,15,20,23,24} the increased use of erythromycin and

clindamycin in patients allergic to penicillin or for the prevention and treatment of other infections, has shown growth rates of GBS resistance to these antimicrobial agents in many countries, including Brazil.^{15,20}

A study made from 1994 to 1999 in Rio de Janeiro found in colonized women 5.4% and 1.1% of GBS resistance to erythromycin and clindamycin, respectively.²⁵ But in recent years the GBS resistance rates to these antibiotics have steadily been increasing in colonized women. In 2003-2004 Borger et al. found 9.4% resistance of *S. agalactiae* to erythromycin and 6.2% to clindamycin.²⁰ Costa et al., in 2005-2006, found rates of 23.6 and 25.4%¹⁰ and Castellano-Filho et al., in 2007-2008, found 22.7 % and 50% resistance to erythromycin and clindamycin, respectively.¹⁵

In relation to susceptibility of four pregnant women colonized by GBS in the present study, we found no resistance to the tested antimicrobials. All pregnant women were susceptible to penicillin and ampicillin, suggesting that intrapartum antibiotic prophylaxis of first choice in patients who are not allergic would have satisfactory results in our hospital. Two pregnant women presented an intermediate profile to clindamycin and one did the same to erythromycin. This reflects a reduction of GBS susceptibility to these antibiotics and intensifies attention to its use, especially in patients who are allergic to penicillin, since for the latter ones the usual doses of these antibiotics may be ineffective in intrapartum antibiotic prophylaxis.

Even with the CDC recommendations, many cases of early-onset neonatal infection still occur in our midst. In Porto Alegre - Rio Grande do Sul was found an incidence of early-onset neonatal GBS infection of 1/1000 born alive²⁶ while in Campinas - São Paulo, a higher incidence of 10.3/1000 born alive was found.⁶

The presence of one case of early-onset neonatal infection among four colonized pregnant women reflects the occurrence of GBS maternal-fetal transmission in our center. This reinforces the necessity of implementing a program for prevention of GBS infection including the detection of colonization during the 35-37 weeks of pregnancy as a fundamental test of prenatal care, besides that obstetricians should join this case due to its great importance.

CONCLUSION

The high frequency of GBS colonization, the increase in resistance to certain antibiotics recommended by the CDC and the occurrence of neonatal GBS infection in our population underscores the importance of the survey of *S. agalactiae* colonization and their antimicrobial susceptibility during 35-37 weeks of gestation. This leads to a rational choice of antimicrobial agent to be used in the antibiotic prophylaxis of pregnant women known to be colonized, it also reduces the unnecessary use of intrapartum antibiotic prophylaxis when it is based only on risk factors, in addition preventing GBS maternal-fetal transmission.

REFERENCES

- Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. **Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC.** Morbidity and Mortality Weekly Report. 2002; 51(RR-11): 1-22.
- Beraldo C, Brito ASJ, Saridaki HO, Matsuo T. **Prevalência da colonização vaginal e anorretal por Estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2004; 26(7): 543-9.
- Reyna-Figueroa J, Ortiz-Ibarra FJ, Pérez-Antonio B, Navarro-Godínez S, Casanova-Román G, García-Carrillo LE. **Quimioprofilaxis para evitar la colonización materna por estreptococo grupo B.** Consecuencias de no adoptar la recomendación internacional. Salud Pub Mex. 2008; 50(2): 155-61.
- Quentin R, M, Watt S. **Prise en charge de Streptococcus agalactiae en obstétrique.** J Gynecol Obstet Biol Reprod. 2002; 31(2): 4S65-73.
- Jahromi BN, Poorarian S, Poorbarfehee S. **The Prevalence and Adverse Effects of Group B Streptococcal Colonization during Pregnancy.** Arch Iranian Med. 2008; 11(6): 654–7.
- Nomura ML, Passini Jr R, Oliveira UM, Calil R. **Colonização materna e neonatal por estreptococo do grupo B em situações de ruptura pré-termo de membranas e no trabalho de parto prematuro.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2009; 31(8): 397-403.
- Stus M, Pawlik D, Brzychczy-Wloch M, Gosiewski T, Rytlewski K, Lauterbach R, et al. **Group B streptococcus colonizations of pregnant women and their children observed on obstetric and neonatal wards on the University Hospital in Krakow, Poland.** J Med Microbiol. 2009; 58: 228-33.
- Backer CJ, Morven ES. **Group B streptococcal infections.** In: Remington JS, Klein JO, editors. **Infectious disease of the fetus and the newborn infant.** 5 th ed. Philadelphia: Saunders. 1998 : 1091-156.
- Beitune P, Duarte G, Maffei CML. **Colonization by Streptococcus agalactiae during pregnancy: maternal and perinatal prognosis.** . Braz J Infect Dis. 2005; 9(3): 276-82.
- Costa ALR, Lamy Filho F, Chein MBC, Brito LMO, Lamy ZC, Andrade KL. **Prevalência de colonização por estreptococos do grupo B em gestantes atendidas em maternidade pública da região Nordeste do Brasil.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2008; 30(6): 274-80.
- Amaral E. **Estreptococo do grupo B: rastrear ou não rastrear? Eis a questão.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2005; 27(4):165-7.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, nineteenth information supplement, document M100-S20.** Wayne, Pennsylvania, USA: CLSI, 2010.
- Koneman, **diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido/Washington C. Winn Jr. [et al.] ; revisão técnica Eiler Fritsch Toros ; tradução Eiler Fritsch Toros [et al.].** 6.^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
- Simões JA, Alves VMN, Fracalanza SEL, Camargo RPS, Lenir M, Milanez HMBP, et al. **Phenotypical characteristics of Group B streptococcus in parturients.** Braz J Infect Dis. 2007; 11(2): 264-6.
- Castellano Filho DS, Silva VL, Nascimento TC, Vieira MT, Diniz CG. **Detection of group B Streptococcus in Brazilian pregnant women and antimicrobial susceptibility patterns.** Braz J Microbiol. 2010; 41: 1047-55.
- Ocampo-Torres M, Sanches-Pérez HJ, Nazar-Beutelspacher A, Castro-Ramírez AE, Cordero-Ocampo B. **Factores asociados a la colonización por Streptococcus del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas.** Salud Pub Mex. 2000; 42(5): 413-21.
- Arisoy AS, Altinisik B, Tünger Ö, Kurutepe S, Ispahi Ç. **Maternal carriage and antimicrobial resistance profile of**

group *B Streptococcus*. Infection. 2003; 31(4): 244-6.

18. Quiroga M, Pegels E, Oviedo P, Pereyra E, Vergara M. **Antibiotic susceptibility patterns and prevalence of group B *Streptococcus* isolates from pregnant women in Misiones, Argentina.** Braz J Microbiol. 2008; 39(2): 245-50.

19. Pogere A, Zoccoli CM, Tobouti NR, Freitas PF, D'Acampora AJ, Zunino JN. **Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2005; 27(4): 174-80.

20. Borger IL, D'Oliveira REC, Castro ACD, Mondino SSB. ***Streptococcus agalactiae* em gestantes: prevalência de colonização e avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos.** Rev Bras de Ginecol Obstet. 2005; 27(10): 575-9.

21. Harrison, **Medicina Interna - Compêndio; 14ª ed.** – Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 1998.

22. Cecil, **Tratado de medicina interna/** editado por Lee Goldman, Dennis Ausiello; [tradução de Ana Kemper... et al.]. – Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

23. Rodríguez-Morales AJ, Rodríguez- Cruz N, García A, Pastran B, Jiménez I, Mejjomil P. **Antimicrobial Activity of Certain Drugs against *Streptococcus agalactiae* Strains in a General Hospital of Caracas, Venezuela 1997-2003.** Acta Cient Estud. 2007; 5(3): 115-8.

24. Joaquim A, Matee MI, Massawe FA, Lyamuya EF. **Maternal and neonatal colonisation of group B streptococcus at Muhumbili National Hospital in Dar ES Salaam, Tanzania: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance.** BMC Public Health. 2009 9(437). Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/9/437>.

25. D'Oliveira REC, Barros RR, Mendonça CRV, Teixeira LM, Castro ACD. **Susceptibility to antimicrobials and mechanisms of erythromycin resistance in clinical isolates of *Streptococcus agalactiae* from Rio de Janeiro, Brazil.** J Med Microbiol. 2003; (52): 1029-30.

26. Miura E, Martini MC. **Group B Streptococcal neonatal infections in Rio Grande do Sul, Brazil.** Rev Inst Med Trop São Paulo. 2001; 23(5): 243-6.

Endereço para correspondência:

Adriana Regina Veit
Rua Marechal Floriano Peixoto n.1367 ,apt 206. Bairro Centro. Santa Maria
E mail: adriane.veit@hotmail.com

Recebido em 15 de dezembro de 2010.

Aprovado em 10 de janeiro de 2011.

4 DISCUSSÃO GERAL

O *S. agalactiae* é a principal causa de infecção em recém-nascidos e em crianças menores de três meses (HERNÁIZ et al., 2004). Além disso, apesar dessa bactéria poder causar infecções graves em gestantes e adultos, ela é mais invasiva em pacientes com idade superior a 60 anos e que apresentem alguma doença de base (FARLEY et al., 1993). Estudos sugerem que o isolamento do EGB em urocultura pode estar associado a elevadas taxas de patologias no aparelho urinário como, por exemplo, cálculo renal e hipertrofia da próstata, além de outras doenças graves como cirrose, insuficiência renal crônica e diabetes mellitus (PERSSON et al., 1988; MUÑOZ et al., 1992). Pacientes com insuficiência renal representaram 7,4% dos EGBs isolados neste estudo.

Dentre os exames solicitados, a urocultura é o exame bacteriológico mais pedido em laboratórios de microbiologia clínica (RAMOS et al., 2006). De acordo com Caetano et al. (2004), em estudo realizado em um Hospital Universitário de Buenos Aires, encontrou-se um índice de 17,5% de uroculturas positivas. Já em um estudo realizado no Centro de Referência Diagnóstica do Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, 15% das uroculturas realizadas foram positivas (RAMOS et al., 2003). Hörner et al. (2008), em um estudo realizado no HUSM, por um período de 5 meses (fevereiro a julho de 2007), encontraram 16,36% de uroculturas positivas. No presente estudo, também realizado no HUSM, por um período de 4 anos, 17,74% das culturas de urina foram consideradas positivas.

Analisando estudos sobre a prevalência do EGB em ITU de gestantes realizados na década de 80, estes relatam índices entre 2% e 7% (LISTON et al., 1979; WOOD e DILLON, 1981; MOLLER et al., 1984; PERSSON et al., 1986). No entanto, pesquisas mais recentes realizadas nos Estados Unidos, divulgam taxas que variam de 1% a 3,5% (BAKER, 1997; MCKENNA et al., 2003; WHITNEY e DALY, 2004). Nesse estudo, encontrou-se uma prevalência de 1,52% de *S. agalactiae* em culturas de urina o que está de acordo com os estudos realizados por Ulett et al. (2009) no Hospital da Universidade do Alabama (EUA), onde o isolamento do EGB ocorreu em 1,1% das amostras de urinas de pacientes adultos. Além disso, nosso resultado está em acordo com os obtidos por outros estudos realizados em diferentes países que apresentaram uma prevalência de 1%, como Suécia (PERSSON et al., 1988), Inglaterra (MHALU, 1987) e Argentina (CAETANO et al. 2004).

Neste estudo, 89,4% foram de urinas provenientes de mulheres. Hernáiz et al., (2004), em Madrid, relataram que a maior incidência (92,90%) de uroculturas positivas para *Streptococcus agalactiae* eram de pacientes do sexo feminino e destas, 20% eram gestantes. Das pacientes deste estudo, 43,6% eram gestantes; resultado similar ao encontrado por Ramos et al. (2006), que foi de 51%. Já nos estudos de Caetano et al. (2004) e Hernáiz et al. (2004), a prevalência do EGB em gestantes foi 28,4% e 21,5%, respectivamente.

A ITU é caracterizada pelo crescimento bacteriano de pelo menos 10^5 UFC/mL de jato médio de urina coletados de maneira asséptica (KASS, 1956). Já em urinas provenientes de pacientes idosos, com infecção crônica e em uso de antimicrobianos, pode ser considerado um crescimento bacteriano $\geq 10^4$ UFC/mL (ORESTEIN e WONG, 1999; FIHN, 2003). Nosso estudo demonstrou, para ambos os sexos, que a UFC/mL prevalente foi a $\geq 10^5$.

Em mulheres, o EGB está relacionado a infecções intrauterinas, endometrite, febre pós-parto, infecção urinária e bacteremia, sendo que a transmissão vertical para o neonato ocorre entre 29 e 70% dos casos, mas nem todos os recém-nascidos desenvolvem a infecção (EVALDSON et al., 1982). Como parte integrante deste estudo, Veit et al. (2010) encontraram uma taxa de 11,11% de prevalência da colonização vaginal e retal pelo *Streptococcus agalactiae* em gestantes atendidas no Centro de Obstetrícia do HUSM, no período de Junho a Dezembro de 2009, o qual apresentou-se inferior às nacionais como as de Londrina, Florianópolis, Rio de Janeiro e Campinas com 14,9% (BERALDO, C. et al., 2004), 21,6% (POGERE et al., 2005), 19,2% (BORGER et al., 2005), 27,6% (NOMURA, et al., 2009), respectivamente.

No que se referem às condições clínicas (exceto gravidez) apresentadas pelos pacientes neste estudo, 31,9% apresentavam alguma doença crônica ou imunodeficiência. Esse resultado está em acordo com o obtido por Hernáiz et al. (2004), que encontraram, para estas mesmas condições, números similares (26,4%).

Também neste estudo, todas as cepas testadas para penicilina e ampicilina foram sensíveis, e apenas uma das cepas testadas para a clindamicina demonstrou resistência. Três cepas deste estudo apresentaram resistência à levofloxacina e uma foi intermediária. Mhalu, (1977) verificou que alguns dos pacientes tiveram ITUs recorrentes, mesmo com o tratamento adequado, efetuado com ampicilina e sulfametoxazol/trimetoprima, fármacos que demonstraram sensibilidade *in vitro*.

Foi identificada uma significativa frequência de isolamento do *S. agalactiae* nas uroculturas de mulheres grávidas, portanto, é necessário ter cautela ao isolar esta bactéria em urinas de gestantes, pois até o momento não existem estudos conclusivos sobre os riscos de

transmissão vertical em concentrações menores do que 10^4 UFC/mL. Portanto, a fim de garantir resultados satisfatórios propostos pelo CDC-2010, para a prevenção da doença de início precoce, os médicos devem informar aos laboratórios que as uroculturas solicitadas são provenientes de gestantes. Por sua vez, os laboratórios devem reportar concentrações $\geq 10^4$ UFC/mL nas uroculturas de gestantes. Devido aos motivos previamente mencionados, sugerimos a realização da cultura de urina como exame pré-natal, o que contribuirá na detecção da colonização do EGB auxiliando na prevenção da doença de início precoce e tardio no recém-nascido.

5 CONCLUSÕES

- Foi encontrada, neste estudo, uma prevalência da colonização vaginal-retal pelo *Streptococcus agalactiae* de 11,1% em gestantes confirmando-se, dessa maneira, a importância da pesquisa de colonização por *Streptococcus agalactiae* em todas as gestantes entre 35^a e 37^a semanas de gestação e uso de quimioprofilaxia intraparto nas gestantes colonizadas.
- 89,4% das uroculturas que detectaram o *Streptococcus agalactiae*, foram provenientes de mulheres sendo que, 43,6% destas, eram gestantes. Estas taxas tornam-se preocupantes, pois, a bacteriúria positiva para *S. agalactiae* em mulher grávida é um marcador para a colonização do trato genital e também por estar associada com um risco maior de desenvolver os sintomas da doença.
- Diante dessa realidade, a implantação, no HUSM, do guia para a prevenção da doença neonatal causada pelo EGB (CDC-2010), se faz necessária a fim de reduzir as esses índices.
- Métodos laboratoriais, específicos para cultura vaginal-retal do EGB, devem ser incluídos na rotina do laboratório de análises clínicas do HUSM.

6 REFERÊNCIAS

APGAR, B. S.; GREENBERG, G.; YEN, G. Prevention of group B streptococcal disease in the newborn. **American Family Physician**, v. 71, n. 5, p. 903-910, 2005.

AREAL, A. et al. Infecção perinatal por *Streptococcus agalactiae* pode ser evitada: Prevalência da colonização em parturientes no Hospital São Marcos, factores de risco e a sua relação com a infecção perinatal. **Acta Pediátrica Portuguesa**, v. 41, n.1, p. 16-21, 2010.

ARISOY, A. S. et al. Maternal carriage and antimicrobial resistance profile of group B *Streptococcus*. **Infection**, v. 31, p. 244-246, 2003.

BAKER, C. J. et al. Safety and immunogenicity of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccines for group B streptococcal types Ia and Ib. **Journal of Infectious Diseases**, v. 179, p. 142-150, 1999.

BAKER, C. J. et al. Use of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine for type II group B *Streptococcus* in healthy women. **Journal of Infectious Diseases**, v. 182, p. 1129-1138, 2000.

BAKER, C. J. et al. Immunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine of group B *Streptococcus*. **The New England Journal of Medicine**, v. 319, p. 1180-1185, 1988.

BAKER, C. J. et al. Suppurative meningitis due to streptococci of Lancefield group B: a study of 33 infants. **Journal of Pediatrics**, v. 82, n. 4, p. 724-729, 1973.

BAKER, C. J.; EDWARDS, M. S. Group B streptococcal conjugate vaccines. **Archives of Disease in Childhood**, v. 88, p. 375-378, 2003.

BAKER, C. J.; Group B streptococcal infections. **Clinics in Perinatology**, v. 24, n. 1, p. 59-70, 1997.

BAKER, C. J.; KASPER, D. L. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 294, n. 14, p.753-756, 1976.

BAKER, C. J.; EDWARDS, M. S.; KASPER, D. L. Role of antibody to native type III polysaccharide of group B *Streptococcus* in infant infection. **Pediatrics**, v. 68, n. 4, p. 544-549, 1981.

BARTON, L. L.; FEIGIN, R. D.; LINS, R. Group B beta hemolytic streptococcal meningitis in infants. **Journal of Pediatrics**, v. 82, n. 4, p. 719-723, 1973.

BEITUNE, P.; DUARTE, G.; MAFFEI, C. M. L. Colonization by *Streptococcus agalactiae* during pregnancy: maternal and perinatal prognosis. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 4, p. 276-282, 2005.

BERALDO, C. et al. Prevalência da colonização vaginal e anorretal por Estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 26, n. 7, p. 543-549, 2004.

BORCHARDT, S. M. et al. Frequency of antimicrobial resistance among invasive and colonizing group B streptococcal isolates. **BioMed Central Infectious Diseases**, v. 6, p. 57, 2006.

BORGER, I. L. et al. *Streptococcus agalactiae* em gestantes: prevalência de colonização e avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 10, p. 575-579, 2005.

BOYER, K. M. et al. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures. **Journal of Infectious Diseases**, v. 148, n. 5, p. 802-809, 1983.

BOYER, K. M.; GOTOFF, S. P. Strategies for chemoprophylaxis of GBS early-onset infections. **Antibiotics & Chemother**, v. 35, p. 267-280, 1985.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Programa de humanização do pré-natal e do nascimento. Informações para gestores e técnicos.** Brasília, 2001.

BRONSEMA, D. A. et al. Secular trends in rates and etiology of nosocomial urinary tract infections at a university hospital. **The Journal Urology**, v. 150, p. 414-416, 1993.

CAETANO, J. V.; LARRE, S.; LOPRETO, C. Detección y caracterización de *Streptococcus agalactiae* em muestras para urocultivo. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, v. 38, n. 4, p. 459-463, 2004.

CARVALHO, M. D. et al. Evaluation of three commercial broth media for pigment detection and identification of group B streptococci (GBS), *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 12, p. 4161-4163, 2009.

CASTOR, M. L. et al. Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates. **Infectious Diseases Obstetrics and Gynecology**, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: A public health perspective. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 45, p. 1-24, 1996.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: Revised Guidelines from CDC. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 51, p. 1-22, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: Revised Guidelines from CDC. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.59 (RR-10), p. 1-32, 2010.

COSTA, A. L. R. 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**, v. 30, n. 6, p. 274-280, 2008.

DE LA ROSA, M. et al. New Granada medium for detection and identification of Group B streptococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30 n. 4, p.1019-1021, 1992.

D'OLIVEIRA, R. E. et al. Susceptibility to antimicrobials and mechanisms of erythromycin resistance in clinical isolates of Streptococcus agalactiae from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, p. 1029-1030, 2003.

EDWARDS, M. S.; BAKER, C.J. Group B streptococcal infections in elderly adults. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 839-847, 2005.

EDWARDS, R. K.; CLARK, P.; DUFF, P. Intrapartum antibiotic prophylaxis 2: positive predictive value of antenatal group B streptococci cultures and antibiotic susceptibility of clinical isolates. **Obstetrics & Gynecology**, v. 100, n. 3, p. 540-544, 2002.

EVALDSON, G. et al. The normal human anaerobic microflora. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 35, p. 9-15, 1982.

FALAGAS, M. E. et al. *Streptococcus agalactiae* infections in non-pregnant adults: single center experience of a growing clinical problem. **Medical Science Monitor**, v. 12, n. 11, p. 447-451, 2006.

FARLEY. M. M. et al. A population-based assessment of invasive disease due to group B *Streptococcus* in nonpregnant adults. **The New England Journal of Medicine** v. 328, n. 25, p. 1807-1811, 1993.

FERRIERI, P. Neonatal susceptibility and immunity to major bacterial pathogens. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 12, p. S394-S400, 1990.

FIHN, S. D. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. **The New England Journal of Medicine**, v. 349, p. 259-266, 2003.

FRANCIOSI, R. A.; KNOSTMAN, J. D.; ZIMMERMAN, R. A. streptococcal neonatal and infant infections. **Journal of Pediatrics**, v. 82, n. 4, p. 707-718, 1973.

GEORGIEVA, R.I. et al. *Streptococcus agalactiae* left-sided infective endocarditis. Analysis of 27 cases from a multicentric cohort. **Journal of infection**, v. 61, p. 54-59, 2010.

GIBBS, R. S.; SCHRAG, S.; SCHUCHAT, A. Perinatal infections due to group B streptococci. **Obstetrics & Gynecology**, v. 104, n. 5, part 1, p. 1062-1076, 2004.

GRANGER, J. R. et al. Endocarditis por *Streptococcus agalactiae*. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.24, n.6, p. 379-381, 2006.

HEATH, P. T. et al. Group B streptococcal disease in infants: a case control study. **Archives of Disease in Childhood**, v. 94, p. 674-680, 2009.

HERNÁIZ, C. et al. Significado clínico del aislamiento de *Streptococcus agalactiae* de orina de pacientes de centros de salud. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 22, n. 2, p. 89-91, 2004.

HÖRNER, R. et al. Comparação de métodos de triagem para detecção de bacteriúria em amostras do Bairro Maringá e do Hospital Universitário de Santa Maria. **Saúde**, v. 34a, n 1-2, p. 16-21, 2008.

JAHROMI, B. N.; POORARIAN, S.; POORBARFEHEE S. The Prevalence and Adverse Effects of Group B Streptococcal Colonization during Pregnancy. **Archives Iranian Medicine**, v. 11, n. 6, p. 654-657, 2008.

JELÍNKOVÁ, J.; MOTLOVÁ, J. Worldwide distribution of two new serotypes of group B streptococci: type IV and Provisional type V. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 361-362, 1985.

JOACHIM, A. et al. Maternal and neonatal colonisation of group B streptococcus at Muhumbili National Hospital in Dar ES Salaam, Tanzania: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance. **Bio Med Central Public Health**, v.9, p. 437, 2009.

JÚNIOR, M. G. T. et al. Endocardite aguda por *Streptococcus agalactiae*: relato de caso. **Revista da SOCERJ**, v. 18, n. 5, p. 477-479, 2005.

KASS, E. H. Assintomatic infections of the urinary tract. **Transactions of Association of American Physicians**, v. 69, p. 56-64, 1956.

KOGAN, G. et al. Structure and immunochemical characterization of the type VIII group B *Streptococcus* capsular polysaccharide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 15, p. 8786-8790, 1996.

KONEMAN, et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**/Washington C. Winn Jr. ... [et al.] ; revisão técnica Eiler Fritsch Toros ; tradução Eiler Fritsch Toros [et al.]. 6.^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

LEFEVRE, J. C. et al. Clinical and microbiologic features of urethritis in men in Toulouse, France. **Sexually Transmitted Diseases**, v.18, n. 2, p.76-79, 1991.

LISTON, T. E. et al. Relationship of neonatal pneumonia to maternal urinary and neonatal isolates of group B streptococci. **Southern Medical Journal**, v.72, n. 11, p.1410-1412, 1979.

MCCRACKEN, G. H. . Group B streptococci: the new challenge in neonatal infections. **Journal of Pediatrics**, v. 82, n.4, p. 703-706, 1973.

MCKENNA, D. S.; MATSON, S.; NORTHERN, I. Maternal group B streptococcal (GBS) genital tract colonization at term in women who have asymptomatic GBS bacteriuria. **Infect Dis Obstet Gynecol**, v.11, p.203-207, 2003.

MERCOLA, J.; Group B *Streptococcus*. **Midwifery Today E-News**, v.3, n. 37, p. 12, 2001.

MHALU, F. S. *Streptococcus agalactiae* in urinary tract infections. **Postgraduate Medical Journal**, v. 53, n. 618, p. 216-218, 1977.

MOLLER, M. et al. Rupture of fetal membranes and premature delivery associated with group B streptococci in urine of pregnant women. **The Lancet**, v. 2, p. 69-70, 1984.

MULLER, A. E. et al. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 85, n. 9, p. 1027-1037, 2006.

MUÑOZ, P. et al. Group B Streptococcus: a cause of urinary tract infection in nonpregnant adults. **Clinical Infectious Diseases**, v. 14, p. 492-496, 1992.

NOMURA, M. L. et al. Colonização materna e neonatal por estreptococo do grupo B em situações de ruptura pré-termo de membranas e no trabalho de parto prematuro. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 31, n. 8, p. 397-403, 2009.

OCAMPO-TORRES, M. et al. Factores asociados a la colonización por Streptococcus del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. **Salud Pública de México**, v. 42, n. 5, p. 413-421, 2000.

ORENSTEIN, R.; WONG, E. S. Urinary tract infections in adults. **American Family Physician**, v. 59, n. 5, p. 1225-1234, 1999.

PERSSON, K. et al. Group B streptococci at delivery: high count in urine increases risk for neonatal colonization. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, p. 525-531, 1986.

PERSSON, K. et al. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy with special reference to group B streptococci. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, p. 195-199, 1985.

PERSSON, K. M. et al. Significance of group streptococci in urine cultures from males and non-pregnant females. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 47-53, 1988.

PHARES, C. R. et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. **The Journal of the American Medical Association**, v. 299, n. 17 p. 2056-2065, 2008.

POGERE, A. et al. Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 4, p. 174-180, 2005.

QUENTIN, R.; MORANGE-SAUSSIER, V.; WATT, S. Prise en charge de Streptococcus agalactiae en obstétrique. **Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction**, v. 31, n. 6, p. 4S65-4S73, 2002.

QUIROGA, M. et al. Antibiotic susceptibility patterns and prevalence of group B Streptococcus isolates from pregnant women in Misiones, Argentina. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 245-250, 2008.

RAMOS, T. Z.; PIZZOLITTO, E. L.; PIZZOLITTO, A. C. Uso do teste com cloridrato de trifetil tetrazólio (CTT) para detecção de bacteriúria sintomática e assintomática. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 38, n. 3, p. 197-199, 2006.

REGAN, J. A.; KLEBANOFF, M. A.; NUGENT, R. P. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 77, n. 4, p. 604-610, 1991.

SANTORO-LOPES, G.; HALPERN, M.; GONÇALVES, R. T. Perinephric abscess caused by Streptococcus agalactiae after renal transplantation. **Journal of Infection**, v. 51, p. e145-e147, 2005.

SCHUCHAT, A.; WENGER, J. D. Epidemiology of group B streptococcal disease: risk factors, prevention strategies, and vaccine development. **Epidemiologic Reviews**, v. 16, n. 2, p. 374-402, 1994.

SIMÕES, J. A. et al. Phenotypical Characteristics of Group B Streptococcus in Parturients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 264-266, 2007.

SPELLERBERG, B. et al. The Cyl genes of *S. agalactiae* are involved in the production of pigment. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters**, v. 188, n. 2, p. 125-128, 2000.

STRUS, M. et al. Group B streptococcus colonizations of pregnant women and their children observed on obstetric and neonatal wards on the University Hospital in Krakow, Poland. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, p. 228-233, 2009.

TAZI, A. et al. Comparative evaluation of strepto B ID chromogenic medium and Granada media for the detection of group B *Streptococcus* from vaginal samples of pregnant women. **Journal of microbiological Methods**, v. 73, p. 263-265, 2008.

ULETT, K. B. et al. Diversity of Group B Streptococcus serotypes causing urinary tract infection in adults. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2055-2060, 2009.

VEIT, A. R. et al. Colonization prevalence and susceptibility of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women at UFSM. **Revista Saúde**, v. 36, n. 1 Jan/Jun, 2010.

VON HUNOLSTEIN, C. et al. Immunochemistry of capsular type polysaccharide and virulence properties of type VI *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci). **Infection and Immunity**, v. 61, n. 4, p. 1272-1280, 1993.

VON HUNOLSTEIN, C. et al. Virulence properties of the type VII *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) and immunochemical analysis of capsular type polysaccharide. **Journal of Medical Microbiology**, v. 48, p. 983-990, 1999.

VOTAVA, M. et al. Use of GBS media for rapid detection of group B streptococci in vaginal and rectal swabs from women in labor. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 20, p. 120-122, 2001.

WESSELS, M. R. et al. Structural determination and immunochemical characterization of the type V group B *Streptococcus* capsular polysaccharide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 11 p. 6714-6719, 1991.

WHITNEY, C. G. et al. The International Infections in Pregnancy study: group B streptococcal colonization in pregnant women. **The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 15, p. 267-274, 2004.

WOOD, E. G.; DILLON, H. C.JR. A prospective study of group B streptococcal bacteriuria in pregnancy. . **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.140, n. 5, p. 515-520, 1981.

YANCEY, M. K. et al. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. **Obstetrics & Gynecology**, v. 88, n. 5, p. 811-815, 1996.

ZUSMAN, A. S.; BALTIMARE, R. S.; FONSECA, S. N. S.; Prevalence of Maternal group B Streptococcal Colonization and Related Risk Factors in a Brazilian Population. **Brazilian Journal of Infectious Diseases** , v. 10, n. 4, p. 242-246, 2006.