



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - CCS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA

JORHANNA ISABELLE ARAÚJO DE BRITO GOMES

**PREVALÊNCIA, SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE
GENES DE RESISTÊNCIA EM *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE
GESTANTES COLONIZADAS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

JOÃO PESSOA
2024

JORHANNA ISABELLE ARAÚJO DE BRITO GOMES

**PREVALÊNCIA, SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE
GENES DE RESISTÊNCIA EM *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE
GESTANTES COLONIZADAS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da
Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pietta Perez

JOÃO PESSOA
2024

JORHANNA ISABELLE ARAÚJO DE BRITO GOMES

**PREVALÊNCIA, SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA E PRESENÇA DE
GENES DE RESISTÊNCIA EM *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE
GESTANTES COLONIZADAS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da
Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pietta Perez

DATA DE APROVAÇÃO: 11/10/2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 VINICIUS PIETTA PEREZ
Data: 23/10/2024 22:04:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Vinícius Pietta Perez (Orientador)
Departamento de Ciências Biomédicas
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente
 ELOIZA HELENA CAMPANA
Data: 23/10/2024 21:21:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Eloiza Helena Campana
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente
 EDUARDO SERGIO SOARES SOUSA
Data: 23/10/2024 08:49:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eduardo Sérgio Soares Souza
Departamento de Obstetrícia e Ginecologia
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G633p Gomes, Jorhanna Isabelle Araújo de Brito.
Prevalência, susceptibilidade antimicrobiana e
presença de genes de resistência em streptococcus
agalactiae isolados de gestantes colonizadas em
hospital universitário / Jorhanna Isabelle Araújo de
Brito Gomes. - João Pessoa, 2024.
44 f. : il.

Orientação : Vinícius Pietta Perez.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Streptococcus agalactiae. 2. Prevalência. 3.
Susceptibilidade Antimicrobiana. 4. Determinantes de
Resistência. I. Perez, Vinícius Pietta. II. Título.

UFPB/CCS

CDU 612.336

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me sustentou durante toda a minha trajetória acadêmica. Sem Ele sei que nunca teria conseguido enfrentar os obstáculos.

À minha família, em especial aos meus pais, que são a minha base, que sempre me incentivaram e nunca mediram esforços para me ajudar.

Ao meu marido, por todo o amor, paciência e incentivo imensuráveis.

À minha irmã, que nunca saiu do meu lado e sempre me animou em momentos difíceis.

Aos meus avós, pela companhia e cuidado constantes.

Aos amigos de curso, por todo o companheirismo, com vocês a jornada se tornou mais leve e divertida.

À Universidade Federal da Paraíba, pelas oportunidades incríveis de crescimento pessoal e profissional.

Aos professores, por todo ensino e dedicação, em especial ao meu orientador, pelo auxílio e oportunidades incríveis de aprendizado.

RESUMO

Streptococcus agalactiae (GBS) é o estreptococo pertencente ao grupo B de Lancefield, e uma importante *causa* de doença infecciosa no período perinatal e neonatal. A colonização anovaginal de gestantes é o principal fator de risco para o desenvolvimento da doença neonatal por GBS. Beta-lactâmicos são a principal escolha terapêutica, contudo, devido ao risco de anafilaxia, em caso de hipersensibilidade aos beta-lactâmicos outras classes de antimicrobianos devem ser utilizadas. Porém, tem se observado o surgimento e a prevalência de resistência a antimicrobianos entre isolados de *S. agalactiae*, sobretudo após a pandemia da COVID-19. O presente estudo teve como objetivo investigar a prevalência da colonização anovaginal, o perfil de susceptibilidade antimicrobiana e a presença de genes de resistência em *Streptococcus agalactiae* isolados de gestantes atendidas em hospital universitário entre janeiro de 2020 a junho de 2024. Foi realizado um estudo observacional de abordagem transversal. Os dados de colonização e de susceptibilidade antimicrobiana foram obtidos a partir dos registros do setor de microbiologia do hospital. Ao longo do estudo, isolados obtidos por conveniência foram cedidos pelo hospital para a pesquisa de determinantes de resistência. Ao total, o estudo obteve 1.323 culturas anovaginais provenientes de gestantes, nas quais o *S. agalactiae* foi encontrado em 11,94%. Observou-se que a prevalência da colonização foi mais alta durante o período pandêmico. Foi obtida a susceptibilidade do GBS à penicilina, ampicilina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina e levofloxacino. Foram realizadas reações de PCR para pesquisa dos seguintes genes de resistência: *tetM*, *tetO*, *ermTR*, *ermB* e *mef*. Todos os isolados foram suscetíveis aos beta-lactâmicos. Foi relatado um aumento significativo na resistência à eritromicina e levofloxacino pós pandemia. O gene *mef* foi o principal responsável pela resistência à eritromicina, porém foi observada uma elevação na proporção de isolados carreando genes *ermB*. Uma tendência de aumento também foi observada para clindamicina em associação ao gene *ermB*. As taxas de resistência à tetraciclina foram altas, e o *tetM* foi o gene predominante. Apesar da relevância clínica do *Streptococcus agalactiae*, o Brasil carece de estudos epidemiológicos sobre o tema, sobretudo na região Nordeste. Pesquisas acerca desse patógeno são relevantes para a saúde pública, e podem auxiliar na promoção de uma melhor vigilância e prevenção da doença neonatal. Além disso, devido à emergência de cepas resistentes deste patógeno em todo o mundo, é importante o monitoramento das taxas de resistência e seus mecanismos moleculares, podendo assim contribuir para o desenvolvimento de estratégias efetivas de tratamento da infecção.

Palavras-chaves: *Streptococcus agalactiae*; Prevalência; Susceptibilidade antimicrobiana; Determinantes de resistência.

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae (GBS) belongs to Lancefield group B, and is the leading cause of neonatal infectious disease. Anovaginal colonization of pregnant women is the main risk factor for the development of neonatal GBS disease. Beta-lactams are the main therapeutic choice; however, due to the risk of anaphylaxis, in case of hypersensitivity to beta-lactams, other classes of antimicrobials should be used. However, the emergence and prevalence of antimicrobial resistance among *S. agalactiae* isolates has been observed, especially after the COVID-19 pandemic. The present study aimed to investigate the prevalence of anovaginal colonization, the antimicrobial susceptibility profile, and the presence of resistance genes in *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women treated at a university hospital between January 2020 and June 2024. An observational, cross-sectional study was carried out. Colonization and antimicrobial susceptibility data were obtained from the hospital's microbiology records. Throughout the study, isolates obtained by convenience were provided by the hospital for the investigation of resistance determinants. In total, the study obtained 1.323 anovaginal cultures from pregnant women, of which *S. agalactiae* was found in 11.94%. It should be noted that the prevalence of colonization was higher during the pandemic period. The susceptibility of GBS to penicillin, ampicillin, erythromycin, clindamycin, tetracycline and levofloxacin was obtained. PCR reactions were performed to investigate the following resistance genes: *tetM*, *tetO*, *ermTR*, *ermB* and *mef*. All isolates were susceptible to beta-lactams. A significant increase in resistance to erythromycin and levofloxacin was reported post-pandemic. The *mef* gene was the main cause of resistance to erythromycin, but an increase in the proportion of isolates carrying *ermB* genes was observed. An increasing trend was also observed for clindamycin in association with the *ermB* gene. Tetracycline resistance rates were high, and *tetM* was the predominant gene. Despite the clinical relevance of *S. agalactiae*, Brazil lacks epidemiological studies on the subject, especially in the Northeast region. Research on this pathogen is relevant to public health and can help promote better surveillance and prevention of neonatal diseases. In addition, due to the emergence of resistant strains of this pathogen worldwide, it is important to monitor resistance rates and their molecular mechanisms, which can contribute to the development of effective strategies for treating the infection.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*; Prevalence; Antimicrobial susceptibility; Resistance genes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma das etapas desenvolvidas a partir do recebimento dos isolados.....	25
Figura 2 – Porcentagem da resistência aos antibióticos ao longo dos 5 anos.....	30
Figura 3 – Fotografia de gel de eletroforese revelado em transiluminador UV.....	32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Listagem dos oligonucleotídeos iniciadores.....	26
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Total de isolados e taxa de positividade e negatividade por ano.....28

Tabela 2 – Prevalência de genes de resistência às tetraciclinas em isolados de *Streptococcus agalactiae* obtidos de gestantes em um Hospital Universitário de João Pessoa, PB.....31

Tabela 3 – Prevalência de genes de resistência aos macrolídeos em isolados de *Streptococcus agalactiae* obtidos de gestantes em um Hospital Universitário de João Pessoa, PB.....31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DIP	Doença de início precoce
DIT	Doença de início tardio
GBS	<i>Streptococcus</i> do grupo B
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
PAI	Profilaxia antibiótica Intraparto
PCR	Reação em cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Características fenotípicas	15
2.2	Sorotipos	16
2.3	Infecção estreptocócica neonatal	16
2.4	Profilaxia antibiótica	17
2.5	Susceptibilidade antimicrobiana	18
2.6	Determinantes de resistência	19
2.6.1	Determinantes de resistência aos macrolídeos	19
2.6.2	Determinantes de resistência às tetraciclínas	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo geral	21
3.2	Objetivos específicos	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	População do estudo	22
4.1.1	Crítérios de inclusão	22
4.1.2	Crítérios de exclusão	22
4.2	Coleta de dados	22
4.3	Coleta, armazenamento e isolamento do material	23
4.4	Identificação fenotípica dos resultados	23
4.4.1	Teste de PYR	23
4.4.2	Teste de CAMP	24
4.5	Determinação fenotípica da susceptibilidade aos antimicrobianos	24
4.6	Pesquisa dos genes de resistência	24
4.6.1	Extração de DNA dos isolados bacterianos	25
4.6.2	Reação em cadeia da polimerase - PCR	26
4.6.3	Eletroforese	26
4.7	Análises estatísticas	27
4.8	Considerações éticas	27
5	RESULTADOS	28
5.1	Descrição da Amostra	28
5.2	Prevalência da colonização anovaginal por <i>S. agalactiae</i>	28

5.3	Susceptibilidade antimicrobiana.....	29
5.4	Presença de genes de resistência.....	30
6	DISCUSSÃO.....	33
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
	REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

Estreptococos são bactérias gram-positivas esféricas que estão distribuídas em ampla escala na natureza e apresentam conformação de pares ou bycadeias. Estas bactérias variam de importantes agentes de patologias a membros da microbiota normal humana, e também podem ser associadas a infecções em animais (Brooks *et al.*, 2014). O estreptococo do grupo B (GBS), ou *Streptococcus agalactiae*, foi diferenciado de outros estreptococos em meados de 1930, isolado do leite de vacas com mastite bovina. Posteriormente, a patogenicidade humana foi descrita, sendo reconhecido como um importante causador de patologia em idosos, imunodeprimidos, portadores de comorbidades, gestantes e sobretudo recém nascidos. Hoje é a principal causa de sepse e doença infecciosa neonatal em muitos países; e o crescente aumento de cepas de GBS resistentes a antimicrobianos tem causado preocupações nos últimos anos (LYHS *et al.*, 2016).

O GBS pode ser encontrado no trato gastrointestinal, pele e aparelho urogenital de seres humanos. É um patógeno oportunista, logo, pode progredir de colonização para um estado de infecção caso o paciente tenha sua imunidade comprometida (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020). A colonização por *S. agalactiae* pode estar relacionada a fatores geográficos, comorbidades, etnia, status econômico, idade, múltiplos parceiros sexuais e entre outros (Pimentel, 2023; Russel *et al.*, 2017). Para o desenvolvimento da infecção em recém nascidos, a colonização do trato genital da gestante é o principal fator de risco, e é habitualmente assintomática (Morgan; Zafar; Cooper, 2021; Koneman *et al.*, 2018). O quadro clínico pode se desenvolver rapidamente, levando ao óbito neonatal antes que o diagnóstico seja estabelecido (Brasil, 2022). Estudos indicam que a taxa de colonização materna global varia entre 10 e 30% (Raabe; Shane, 2019; Pogere *et al.*, 2005) e no Brasil, entre 14,1 a 27,6% (Brasil, 2022). Outros fatores de risco para a infecção neonatal por GBS são: trabalho de parto prematuro, febre materna durante o trabalho de parto e ruptura prolongada de membranas (Morgan; Zafar; Cooper, 2021). A taxa de mortalidade neonatal está entre 5 a 7% em países dotados de recursos; podendo chegar a um número de 27% em países em situações precárias (Borguesi; Stronati; Fellay, 2017; Raabe; Shane, 2019).

Além de sua relevância como patógeno para neonatos, o *S. agalactiae* também é responsável por causar doença invasiva sistêmica em mulheres grávidas.

Sua detecção é mais comum antes ou durante o parto, porém as mulheres no período posterior ao parto também apresentam risco aumentado de contrair a doença invasiva (Raabe; Shane, 2019). Ademais, configura-se também como um agente patogênico para adultos não gestantes, e sua incidência tem aumentado ao longo dos anos. Idosos e pacientes com comorbidades como doenças cardíacas, distúrbios neurológicos, doenças renais e hepáticas se configuram como grupo de risco. As manifestações mais frequentes são infecções do trato urinário, bacteremias, pneumonias, infecções em articulações, ossos, peles e tecidos moles (Pimentel, 2023; Raabe; Shane, 2019).

O principal método de prevenção da infecção neonatal por GBS é a administração de antibióticos intraparto (Profilaxia Antibiótica Intraparto - PAI), que está associada a uma redução de mais de 80% na incidência da doença (Fiorella *et al.*, 2020). A PAI deve ser administrada em um intervalo de mais de quatro (04) horas antes do parto para fornecer uma melhor proteção (Morgan; Zafar; Cooper, 2021). A identificação de pacientes que irão receber a profilaxia é feita através de cultura anovaginal entre a 36^a e 37^a semanas de gestação buscando colonização por GBS (Costa *et al.*, 2022). Apesar da alta eficácia da PAI, muitos países - sobretudo subdesenvolvidos - não possuem uma política específica para a profilaxia (Fiorella *et al.*, 2020).

Apesar da gravidade de seus processos infecciosos, no Brasil o GBS ainda não é apropriadamente valorizado como causador de infecção em recém-nascidos e gestantes. As estratégias públicas de prevenção da infecção por *S. agalactiae* são escassas, e as recomendações para triagem e profilaxia estão presentes apenas no manual de gestação de alto risco, e não há recomendações para gestações de baixo risco. Ou seja, não há garantias que todas as gestantes serão submetidas à pesquisa de GBS e que a PAI será instituída para prevenção da doença neonatal. Na prática, observam-se problemas como falta de instrução e recomendação técnica, divergências na condução e falta de estrutura adequada nas instituições de saúde.

O principal fator predisponente à infecção é a colonização do trato genital materno. Logo, as estratégias de prevenção da infecção por *S. agalactiae* vêm sendo fundamentadas sobretudo na administração da PAI. Observa-se, entretanto, um aumento global de cepas de GBS resistentes aos antimicrobianos administrados na profilaxia, quer seja por sua administração extensiva ou por outros fatores, sendo

esta uma questão de importante destaque. Além disso, ao longo dos últimos anos, sobretudo após a pandemia da COVID-19, observou-se um aumento desproporcional no consumo de antimicrobianos. Tal exposição influenciou negativamente a emergência e disseminação de resistência.

Dados sobre a prevalência da colonização por *S. agalactiae* e perfis de susceptibilidade antimicrobiana em gestantes no Brasil, sobretudo na região nordeste, são escassos. Vale ressaltar que a epidemiologia microbiana sofre alterações regionais, sendo ideal observar sua prevalência local, evitando extrapolar dados de outras regiões.

Logo, o presente estudo se justifica pela necessidade de se estabelecer métodos mais efetivos de controle da infecção por *S. agalactiae* ao se traçar a prevalência da colonização materna, presença de isolados resistentes a antimicrobianos e genes de resistência em cepas locais de GBS isolados de grávidas atendidas no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW). Nesse contexto, observa-se que o HULW é um hospital de referência em pré-natal de alto risco, com alta demanda decorrente do fato de ser uma das poucas unidades de saúde da Paraíba a oferecer atendimento qualificado nestes casos específicos de gravidez.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características fenotípicas

O *S. agalactiae* é a única espécie colonizadora da microbiota humana que possui o antígeno do grupo B de Lancefield, um polissacarídeo específico de parede celular que está presente em todas as cepas (Rosa-Fraile; Spellerberg, 2017). Cresce prontamente em meios nutricionalmente enriquecidos produzindo colônias grandes translúcidas, cinzentas a brancas; são beta hemolíticos, produzindo zonas de hemólise moderadamente maiores do que as próprias colônias - embora a beta hemólise por vezes possa ser difícil de ser visualizada; hidrolisa o hipurato de sódio; produzem uma resposta positiva ao teste de CAMP; e além disso, apresentam resistência à bacitracina (Brooks *et al.*, 2014; Murray; Rosenthal; Pfaller, 2017; Koneman *et al.*, 2018).

2.2 Sorotipos

Isolados de *S. agalactiae* expressam um polissacarídeo capsular rico em ácido siálico, o que é um importante fator de virulência antifagocitário, estando relacionado com a colonização e doença, por ser um importante fator de evasão do sistema imune do hospedeiro. O polissacarídeo capsular determina a especificidade de cada sorotipo de GBS (Alves, 2018; Lyhs *et al.*, 2016; Koneman *et al.*, 2018). O *S. agalactiae* apresenta 10 sorotipos: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII e IX. Embora tenham sido identificados dez sorotipos capsulares em GBS, os sorotipos Ia, Ib, II, III e V são predominantemente responsáveis por sua doença invasiva, pois cada GBS apresenta diferenças na sua virulência dependendo do sorotipo capsular presente (Vorhagen; Waldorf; Rajagopal, 2017).

Os métodos fenotípicos mais comuns para identificação de sorotipos são os testes de imunodifusão e de aglutinação em látex. Estes sofrem a falta de padronização de reagentes, e podem falhar na atribuição do sorotipo correto em até 10 a 25% dos casos. Técnicas moleculares para a identificação do sorotipo capsular de *S. agalactiae* têm ganhado evidência por sua análise rápida e precisa, sendo facilmente reproduzíveis (Imperi *et al.*, 2010).

2.3 Infecção estreptocócica neonatal

O período neonatal é um período de grande risco para infecções graves que podem ameaçar a sobrevivência do recém nascido, sendo o *S. agalactiae* um importante causador de doença neonatal e sepse (Tavares; Pinho; Andrade, 2022). A colonização das gestantes por GBS é o principal fator de risco para a infecção, e pode ser transitória, crônica ou intermitente (Morgan; Zafar; Cooper, 2021). Observa-se duas formas de infecção neonatal, a doença de início precoce (DIP), e a doença de início tardio (DIT) (Fiorella *et al.*, 2020).

A DIP pode iniciar-se de forma ascendente *in utero* durante a ruptura de membranas, na qual a bactéria se move da vagina para o útero penetrando os tecidos gestacionais e causando inflamação das membranas placentárias. Pode também ocorrer durante o momento do parto, onde pele ou mucosas do recém nascido podem ser contaminadas durante a passagem pelo canal vaginal (Nascimento, 2016; Vornhagen *et al.*, 2017). A doença de início precoce se

manifesta na primeira semana de vida, e os sintomas clínicos incluem sepse, desconforto respiratório, apneia, pneumonia e meningite, podendo resultar em prolongada internação hospitalar e óbito (Morgan; Zafar; Cooper, 2021; Raabe; Shane, 2019).

A doença de início tardio ocorre por transmissão horizontal após o parto, e se manifesta em sua maioria entre 7 e 90 dias de vida. As formas de contágio da DIT podem incluir: colonização intestinal por ingestão de leite materno infectado; colonização da pele/mucosas materna ou paterna, ambiente hospitalar ou comunitário (Borghesi; Stronati; Fellay, 2017). A manifestação clínica mais comum da DIT é a meningite, mas também pode ocorrer bacteremia, infecção do trato urinário, infecção óssea/articular, pneumonia ou infecções de tecidos moles (Raabe; Shane, 2019).

2.4 Profilaxia Antibiótica

A administração de antibióticos intraparto tem a finalidade de diminuir a incidência de colonização neonatal por GBS e reduzir o risco de sepse neonatal (*American College of Obstetrics and Gynecologists* - ACOG, 2020). Segundo dados do manual técnico de Gestação de Alto Risco do Ministério da Saúde (Brasil, 2022), a eficácia da PAI para evitar a DIP entre recém-nascidos de mulheres colonizadas pelo GBS varia entre 86% e 89%.

O teste de susceptibilidade a antimicrobianos deve ser realizado em todas as culturas anovaginais de pesquisa de GBS para orientar a profilaxia antibiótica. O antimicrobiano de escolha é a Penicilina G intravenosa, pois seu espectro de atividade é mais direcionado para bactérias Gram-positivas e possui menor probabilidade de induzir resistência. A ampicilina intravenosa é uma alternativa possível na ausência de penicilina (ACOG, 2020; Morgan; Zafar; Cooper, 2021). Em gestantes com alergia relatada à penicilina e alto risco de anafilaxia, a clindamicina é o antimicrobiano indicado, caso a cepa seja susceptível. Caso o isolado apresente resistência à clindamicina, é recomendado o uso de vancomicina para a PAI, porém o uso é restrito apenas nesses casos uma vez que seu uso pode estar associado ao surgimento de cepas resistentes (ACOG, 2020; Costa *et al.*, 2022; Morgan; Zafar; Cooper, 2021).

As medidas profiláticas intraparto são eficazes na prevenção da DIP. Entretanto, tais medidas não se comprovaram eficazes contra a DIT. As vacinas, que estão atualmente em desenvolvimento, são aguardadas como promissoras estratégias de prevenção. Vacinas efetivas para uso em gestantes e formulações direcionadas para os polissacarídeos capsulares encontram-se em estudos clínicos por indústrias farmacêuticas (Fiorella *et al.*, 2020; Jin *et al.*, 2018).

2.5 Tratamento das infecções por *Streptococcus agalactiae*

O crescente aumento de cepas de GBS resistentes a antimicrobianos tem causado preocupações nos últimos anos (Zakerifar *et al.*, 2023). O antimicrobiano de escolha para o tratamento das infecções por *S. agalactiae* permanece sendo as penicilinas, devido à universal suscetibilidade do GBS aos beta-lactâmicos (Botelho *et al.*, 2018; Nascimento, 2019; Kimura *et al.*, 2013). Entretanto, isolados de GBS com suscetibilidade reduzida aos beta-lactâmicos têm sido relatados no Japão (Kimura *et al.*, 2008; Morozumi *et al.*, 2016), América do Norte (Dahesh *et al.*, 2008; Gaudreau *et al.*, 2009) e América Latina (Crespo-ortiz *et al.*, 2014).

Além disso, estudos demonstram que a resistência do GBS à eritromicina e clindamicina tem aumentado em vários países (Botelho *et al.*, 2018). A eritromicina pertence à família dos macrolídeos, e a clindamicina pertence à família das lincosamidas. Os macrolídeos são compostos de um anel lactona de 14, 15 ou 16 membros, e as lincosamidas não possuem anel lactona. Embora sejam diferentes estruturalmente, ambos possuem um mecanismo de ação semelhante, se ligando ao RNA ribossômico 23S da subunidade 50S do ribossomo bacteriano. Isso explica a resistência cruzada frequentemente observada entre essas duas classes de antimicrobianos (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020).

Nas diretrizes anteriores da profilaxia intraparto, em casos de alergia aos beta-lactâmicos a principal alternativa terapêutica para tratamento de infecções graves pelo GBS era eritromicina e clindamicina. Porém, observou-se que as ocorrências de resistência de GBS à eritromicina vêm aumentando ao longo dos anos, sendo o seu uso não mais recomendado (ACOG, 2020; Botelho *et al.*, 2018; Poyart *et al.*, 2003; Teatero *et al.*, 2017). A prevalência global estimada de resistência à eritromicina é de 19% a 50% (Bolukaoto *et al.*, 2015; Crespo-Ortiz *et*

al., 2014; Botelho *et al.*, 2018) e à clindamicina é de 4,5% a 30% (Barros *et al.*, 2016; Bolukaoto *et al.*, 2015; Botelho *et al.*, 2018; Crespo-Ortiz *et al.*, 2014).

A prevalência de isolados de *S. agalactiae* resistentes à tetraciclina é alta, sobretudo em isolados humanos. A tetraciclina possui ação bacteriostática, e liga-se à subunidade 30S do ribossomo bacteriano, inibindo a fase de alongamento da síntese proteica e impedindo o crescimento bacteriano (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020). As taxas de resistência de GBS à tetraciclina variam de 70 a 95% em todo o mundo (Botelho *et al.*, 2018; Meroni *et al.*, 2022, Hernandez, *et al.*, 2022). Associações significativas foram descritas por Dutra *et al.* (2014) entre resistência à tetraciclina e cepas de GBS colonizadoras. É importante destacar que o surgimento e a expansão de clones de GBS resistentes à tetraciclina está relacionada à evolução da colonização e infecção das cepas humanas, estando diretamente associado a infecções neonatais invasivas (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020).

Em decorrência do aumento de cepas de GBS resistentes a macrolídeos e lincosamidas, outras classes de antimicrobianos como fluoroquinolonas se inserem como possível alternativa para o tratamento de infecções por *S. agalactiae* principalmente em adultos (Hays *et al.*, 2016). As fluoroquinolonas de segunda e terceira geração (ex. levofloxacino, moxifloxacino) apresentam atividade melhorada contra as Gram-positivas quando comparadas às de primeira geração (ex. norfloxacino, ciprofloxacino). Essa classe de antimicrobianos age se ligando às topoisomerasas II e IV e DNA girases, o que resulta em alterações conformacionais. Essas alterações inibem a função enzimática normal, impedindo a síntese do DNA e causando o efeito antimicrobiano (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020; Ki *et al.*, 2012).

2.6 Determinantes de Resistência

2.6.1 Determinantes de resistência aos Macrolídeos

Os principais determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos são os genes *erm* e *mef*. O mecanismo de resistência associado ao gene *erm* é a codificação de uma metiltransferase que metila o RNAr 23S estreptocócico no alvo do nucleotídeo de ligação à eritromicina, prejudicando assim a ligação da eritromicina ao seu alvo ribossomal. Devido à sobreposição de locais de ligação no RNAr 23S, a presença desse gene resulta em um fenótipo de resistência cruzada à

macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas-B (fenótipo MLS). Este fenótipo pode ser constitutivo (cMLS), quando o RNA mensageiro que codifica a metilase já está ativo no microrganismo; ou induzível (iMLS), quando o RNA mensageiro que codifica a metilase está inativo no microrganismo, e só é ativado na presença de um macrolídeo indutor. O fenótipo cMLS geralmente é mediado pelo gene *erm(B)*, já o iMLS geralmente é mediado pelo *erm(A)* subclasse TR (Depardieu *et al.*, 2007; Zakerifar *et al.*, 2023; Perez-trallero *et al.*, 2007; Marimon *et al.*, 2005; Nascimento, 2019).

Os genes *mef* produzem o fenótipo M, que confere resistência a macrolídeos com anéis de 14 e 15 membros, no qual a eritromicina está incluída, porém não interferem na sensibilidade à lincosamidas ou macrolídeos com anéis de 16 membros (ex. Tilosina). A atuação dos genes *mef* baseia-se na codificação de uma bomba de efluxo próton dependente para o antimicrobiano (Marimon *et al.*, 2005; Perez-Trallero *et al.*, 2007; Botelho *et al.*, 2018). A subclasse *mef(A)* foi inicialmente identificado em *Streptococcus pyogenes* e a subclasse *mef(E)* em *Streptococcus pneumoniae*, tendo sido os dois já descritos para isolados clínicos de *S. agalactiae* resistentes à eritromicina (Marimon *et al.*, 2005).

2.6.2 Determinantes de Resistência à Tetraciclina

Os determinantes de resistência à tetraciclina são frequentemente encontrados em transposons conjugativos, o que facilita a sua transmissão entre as cepas (Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020). A resistência pode se dar através de genes de proteção ao ribossomo, incluindo *tet(M)* e *tet(O)*, ou por bombas de efluxo, incluindo *tet(K)* ou *tet(L)*. As bombas de efluxo são seletivas para o substrato da tetraciclina. Tais genes codificam proteínas associadas à membrana que exportam tetraciclina da célula, reduzindo a concentração intracelular do antibiótico. Quanto ao mecanismo de proteção ao ribossomo, a tetraciclina se liga aos ribossomos interrompendo a síntese proteica. Os genes de resistência interagem causando um desligamento do sítio de ligação primário da tetraciclina com o ribossomo, fazendo com que se separem e a síntese proteica continue (Meroni *et al.*, 2022; Balsalobre, 2014). A maioria das cepas de GBS são caracterizadas pela presença de *tet(O)* ou *tet(M)*, sendo *tet(M)* o gene de maior frequência. (Meroni *et al.*, 2022; Emaneini *et al.*, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Observar a prevalência da colonização anovaginal por *Streptococcus agalactiae* em gestantes atendidas no Hospital Universitário Lauro Wanderley entre janeiro de 2020 a junho de 2024.

3.2 Objetivos específicos

- Observar a prevalência da colonização por *S. agalactiae* em gestantes atendidas no HULW.
- Traçar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos e seu comportamento ao longo dos 5 anos.
- Avaliar a prevalência dos genes associados a resistência a macrolídeos, lincosamidas e tetraciclinas (*ermB*, *ermTR*, *mef*, *tetM*, *tetO*) em isolados selecionados.

4 METODOLOGIA

Tratou-se de um estudo observacional de abordagem transversal. Os procedimentos realizados durante este estudo foram executados na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley e nos Laboratório de Endemias e de Microbiologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba (NUMETROP/CCS).

4.1 População do estudo

Foram avaliadas 1.323 gestantes entre a 36^a e 37^a semana de gestação, atendidas no pré-natal de alto risco (PNAR) ou na internação da maternidade do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) para rastreio de colonização por GBS entre os anos de 2020 a 2024. O HULW está localizado na cidade de João Pessoa (PB), e possui uma maternidade de referência em pré-natal de alto risco.

4.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas no presente estudo gestantes entre a 36^a e 37^a semana de gestação, que foram submetidas à pesquisa de GBS durante o período de 2020 a 2024 no HULW.

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo casos que não possuíam coleta anovaginal, ou com ausência de número de prontuário ou ausência de teste de susceptibilidade antimicrobiana.

4.2 Coleta de dados

Foram obtidos os dados de prevalência e de susceptibilidade antimicrobiana a partir dos registros do setor de microbiologia da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley. Os dados foram transcritos em planilha de pesquisa sem identificação de nome do paciente.

4.3 Coleta, armazenamento e isolamento do material

Para o rastreio da colonização por GBS, foi realizada cultura através de swab anovaginal. Um único swab ponta rayon estéril foi inserido no canal vaginal por 2 centímetros, e depois na região endoanal, sendo inserido um centímetro, sem utilização de espéculo, de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Microbiologia (2021). Em seguida, o swab foi armazenado em meio Stuart de transporte.

Após essa etapa, o swab foi inserido em caldo seletivo Todd-Hewitt e incubado por 8 horas a 35°C em aerobiose. Na presença de turvação, foram transferidos para placas contendo meio ágar sangue e incubadas por 24 horas a 35°C. As colônias com morfologia característica e suspeitas de GBS foram identificadas por métodos fenotípicos. Os procedimentos acima e o teste de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados no HULW.

4.4 Identificação fenotípica dos isolados

Posteriormente, uma alçada de cada amostra foi inoculada em meio ágar sangue de carneiro a 5% e incubada em atmosfera de aerobiose à 35°C por 24-48 horas. Em seguida, foi observada a presença de colônias sugestivas, com beta-hemólise, negativas para o teste da catalase e com morfologia de cocos gram-positivos. Logo após, foram realizados testes de produção da pirrolidonil-arilamidase (PYR), e de produção do fator CAMP.

4.4.1 Teste de PYR

O teste de produção da Pirrolidonil-arilamidase (PYR) foi realizado sobre uma placa de petri, na qual foi transferido um disco impregnado com o substrato de PYR, e adicionado uma gota de água. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, uma colônia suspeita foi transferida para a superfície do disco, e aguardou-se 5 minutos. Então, foi adicionada uma gota do reagente de PYR. Após dois minutos, observou-se se houve surgimento de coloração vermelha, que indica positividade para o teste. Esse teste é altamente sensível e específico para estreptococos do grupo A e para a maioria das espécies de *Enterococcus*, que apresentam resultado positivo, permitindo diferenciá-los do *Streptococcus agalactiae* (Koneman *et al.*, 2018).

4.4.2 Teste de CAMP

O teste de CAMP foi realizado em placa de Ágar Sangue de carneiro. Foi usada uma cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 27923) produtora de beta-hemolisina, e inoculada em linha reta e perpendicular às amostras de *S. agalactiae*, sem que mantivessem contato, com uma distância de 0,5 cm. As placas foram incubadas em estufa 35°C, em aerobiose por 24h, e após isso, lidos os seus resultados (Koneman *et al.*, 2018). Praticamente todas as cepas de *S. agalactiae* expressam uma toxina protéica chamada “fator CAMP”. O fator CAMP interage com a beta-hemolisina do *S. aureus* gerando uma forte zona de hemólise em forma de ponta de seta na área onde as duas estrias de crescimento estão próximas. Este teste mostrou-se altamente sensível para estreptococos do grupo B, embora *Listeria monocytogenes* e outros *Streptococcus* spp., principalmente de origem animal, também sejam CAMP-positivos (Jin *et al.*, 2018; Koneman *et al.*, 2018).

4.5 Determinação fenotípica da suscetibilidade aos antimicrobianos

Os isolados tiveram determinada a suscetibilidade aos seguintes antimicrobianos: penicilina e/ou ampicilina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina e levofloxacino. O teste e a leitura dos halos foram realizados de acordo com o normatizado para a metodologia de disco-difusão pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testings (BrCAST, 2024).

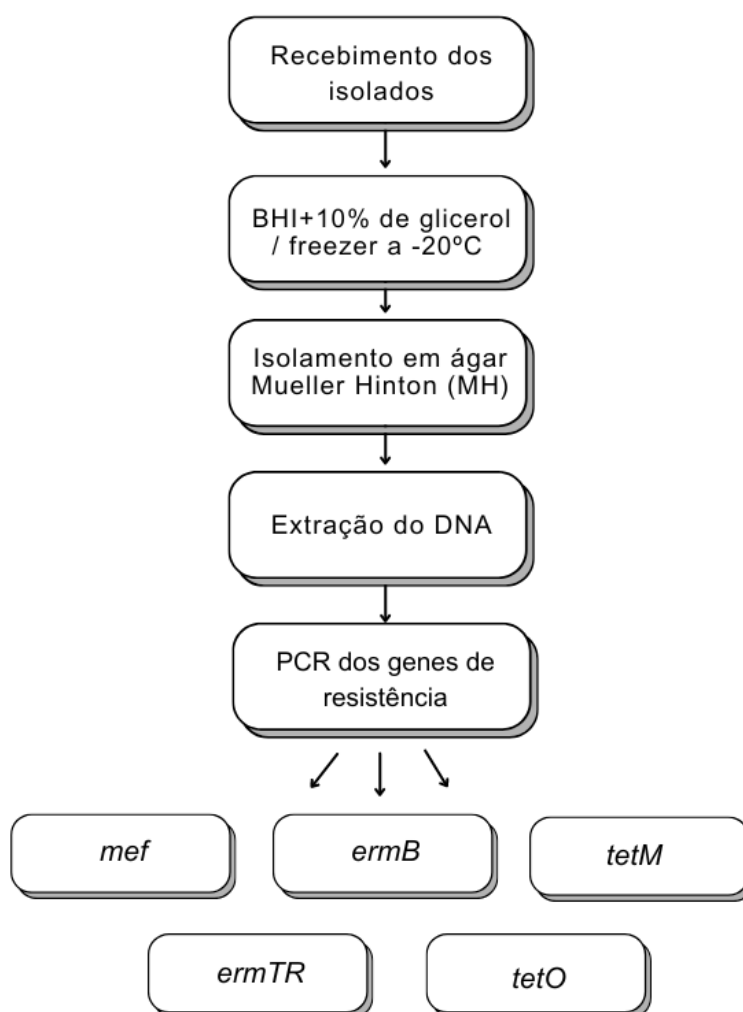
4.6 Pesquisa dos Genes de Resistência

Ao longo do estudo, um total de 113 isolados de *Streptococcus agalactiae* de gestantes obtidos por conveniência foram cedidos pela Unidade de Laboratório de Análises Clínicas do HULW para a pesquisa de determinantes de resistência. Esta segunda etapa foi realizada no Laboratório de Endemias do Núcleo de Medicina Tropical da UFPB. A figura 1 demonstra o fluxo de trabalho e os procedimentos realizados após o recebimento desses isolados. Ao decorrer do recebimento, foram colhidas alças densas de cada amostra, transferidas para microtubos contendo caldo BHI e 10% de glicerol, e armazenadas em freezer a -20°C para conservação para seu posterior uso.

4.6.1 Extração de DNA dos isolados bacterianos

Nos isolados selecionados, foi realizada extração de DNA, seguindo o protocolo previamente descrito por Lamballerie *et al.* (1992). No procedimento, uma alçada de cada colônia foi transferida para um microtubo contendo solução de 200µL de Chelex 100® (Sigma-Aldrich) a 10%, homogeneizada em vórtex vigoroso por 1 minuto, incubada em banho seco a 100°C por 30 minutos, homogeneizada em vórtex novamente por 1 minuto e centrifugada por 5 minutos. Em seguida o sobrenadante foi transferido com uma micropipeta para um novo microtubo estéril onde foi armazenada congelada a -20°C.

Figura 1. Fluxograma das etapas desenvolvidas a partir do recebimento dos isolados



4.6.2 Reação em cadeia da Polimerase - PCR

Foram realizadas reações de PCR para pesquisa dos seguintes genes de resistência: *tetM*, *tetO*, *ermTR*, *ermB* e *mef*, seguindo os protocolos de Marimon *et al.* (2005), Perez-trallero *et al.* (2007) e Poyart *et al.* (2003). Foram realizadas reações separadas para cada gene. Resumidamente, em microtubos de 200µL, foram pipetados água livre de DNase/RNase; 5x buffer contendo dNTP; mix de enzimas, os primers direto e reverso do gene a ser pesquisado, e 3 µL do DNA extraído, com volume final de 25 µL. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados, bem como o tamanho dos fragmentos amplificados estão descritos no quadro 1. O termociclador utilizado foi o TProfessional Basic Thermocycler (BIOMETRA). O protocolo de amplificação seguiu os seguintes parâmetros: ativação inicial da DNA polimerase a 95°C por 15 min; seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, anelamento a 60°C ou 50°C a depender do gene por 30 segundos e 72°C por 1 minuto. Após isso, 72° novamente por 5 minutos. A cada reação de amplificação, controles negativos e positivos foram conduzidos em conjunto.

Quadro 1. Listagem dos oligonucleotídeos iniciadores

Alvo	Sequência 5' 3'	Fragmento amplificado	Referência
<i>mef</i>	AGTATCATTAACTACTAGTGC TTCTTCTGGTATOAAAAGTGG	345	Perez-Trallero <i>et al.</i> , 2007
<i>ermB</i>	ATTGGAACAGGTAAAGGGC GAACATCTGTGGTATGGCG	442	Marimon <i>et al.</i> , 2005
<i>ermTR</i>	AACTTGTGGAAATGAGTCAA CAGAATCTACATTAGGCTTAGGG	375	Marimon <i>et al.</i> , 2005
<i>tetM</i>	GTGGAGTACATTACATTTACGAG GAAGCGGATCACTATCTGAG	359	Poyart <i>et al.</i> , 2003
<i>tetO</i>	GCGGAACATTGCATTTGAGGG CTCTATGGACAACCCGACAGAAG	538	Poyart <i>et al.</i> , 2003

4.6.3 Eletroforese

O produto da amplificação foi observado por eletroforese em gel de agarose 2% com corante de ácidos nucleicos fluorescentes DS-View (SINAPSE Inc.). A programação do procedimento foi de 120 volts por 60 minutos.

Os géis foram revelados em transiluminador UV em 267-294nm e os produtos amplificados comparados com padrão de peso molecular de 100 pb (SINAPSE Inc). A interpretação dos padrões de banda foi realizada de acordo com Perez-Trallero *et al.* (2007) para *mef*, Marimon *et al.* (2005) para *ermB* e *ermTR* e Poyart *et al.* (2003) para *tetM* e *tetO*.

4.7 Análises Estatísticas

Foi obtida a prevalência da colonização anovaginal por *Streptococcus agalactiae* nas gestantes nos anos de 2020, 2021, 2022, 2023 e 2024. Analisou-se o perfil de susceptibilidade dos isolados aos antimicrobianos penicilina e ampicilina, eritromicina, clindamicina e levofloxacino. Investigou-se também a presença dos genes associados a resistência a macrolídeos, lincosamidas e tetraciclina (*ermB*, *ermTR*, *mef*, *tetM*, *tetO*) em isolados selecionados.

Para tanto, construiu-se tabulações cruzadas e as prevalências foram apresentadas em frequências absolutas e relativas, considerando intervalos de confiança de 95%. As inferências estatísticas foram realizadas utilizando o teste qui-quadrado de Pearson para diferença entre as variáveis categóricas. Todos os dados foram avaliados em banco de dados do programa IBM SPSS Statistics for Windows, versão 20, considerando significância a $P \leq 0,05$.

4.8 Considerações Éticas

O presente projeto faz parte do projeto aprovado na chamada Pesquisa Colaborativa FAPESQ-FAPESP 2019 e Chamada Universal 2021 - FAPESQ, e se constitui um braço da proposta avaliada eticamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley sob número CAAE: 02144718.0.3001.5183.

5. RESULTADOS

5.1 Descrição da amostra

Ao total, o estudo obteve 1.327 culturas anovaginais provenientes de gestantes. Desse total, quatro foram excluídas devido à ausência de dados e de testes de susceptibilidade para três ou mais dos antimicrobianos do estudo, logo, o tamanho amostral se restringiu a 1.323 casos. No ano de 2020 foram realizadas 261 culturas para rastreio de GBS; em 2021 foram realizadas 343; em 2022 foram realizadas 268; em 2023 foram realizadas 303 e em 2024 (até o mês de junho) foram realizadas 148.

5.2 Prevalência da colonização anovaginal por *S. agalactiae*

O *S. agalactiae* foi encontrado em 11,94% das culturas anovaginais deste estudo. Quanto à prevalência da colonização anovaginal ao longo dos 5 anos, obteve-se os resultados apresentados na Tabela 1. A partir das análises estatísticas, o teste qui-quadrado de Pearson demonstrou existir diferença significativa na prevalência de GBS entre os anos de estudo na nossa população ($p=0,000$). Observou-se redução da prevalência, sobretudo em 2023.

Tabela 1. Total de isolados e taxa de positividade e negatividade por ano

Ano	Nº total de culturas	Nº de culturas positivas	Nº de culturas negativas
2020	261	37 (14,2%)	224 (85,8%)
2021	343	61 (17,8%)	282 (82,2%)
2022	268	26 (9,7%)	242 (90,3%)
2023	303	15 (5%)	288 (95%)
2024	148	19 (12,8%)	129 (87,2%)
Total	1323	158 (11,94%)	1165 (88,05%)

Qui-quadrado de Pearson ($p<0,05$)

5.3 Suscetibilidade antimicrobiana

Os antimicrobianos incluídos neste estudo foram penicilina, ampicilina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina e levofloxacino. Penicilina e ampicilina foram agrupados por pertencerem à mesma classe antimicrobiana, beta-lactâmicos. Durante os anos de 2020 a 2024, 100% dos isolados foram suscetíveis ao grupo dos beta-lactâmicos.

Quanto à eritromicina, em 2020 88,6% (n=31) dos isolados foram suscetíveis e 11,4% (n=4) resistentes. Em 2021 83,3% (n=50) foram suscetíveis e 16,7% (n=10) resistentes. Em 2022 a porcentagem de isolados suscetíveis caiu para 77,3% (n=17), e 22,7% (n=5) apresentaram resistência. Em 2023, 60% (n=6) foram suscetíveis e 40% (n=4) resistentes, e em 2024, 57,9% (n=11) foram suscetíveis e 42,1% (n=8) resistentes.

Em 2020 100% (n=35) dos isolados foram suscetíveis à clindamicina. Em 2021, 88,3% (n=53) dos isolados foram suscetíveis à clindamicina e 11,7% (n=7) foram resistentes. Em 2022, 88,5% (n=23) foram suscetíveis e 11,5% (n=3) resistentes. Em 2023 a porcentagem de isolados suscetíveis caiu para 78,6% (n=11), e 21,4% (n=3) apresentaram resistência. Em 2024, 100% (n=19) dos isolados foram suscetíveis à clindamicina.

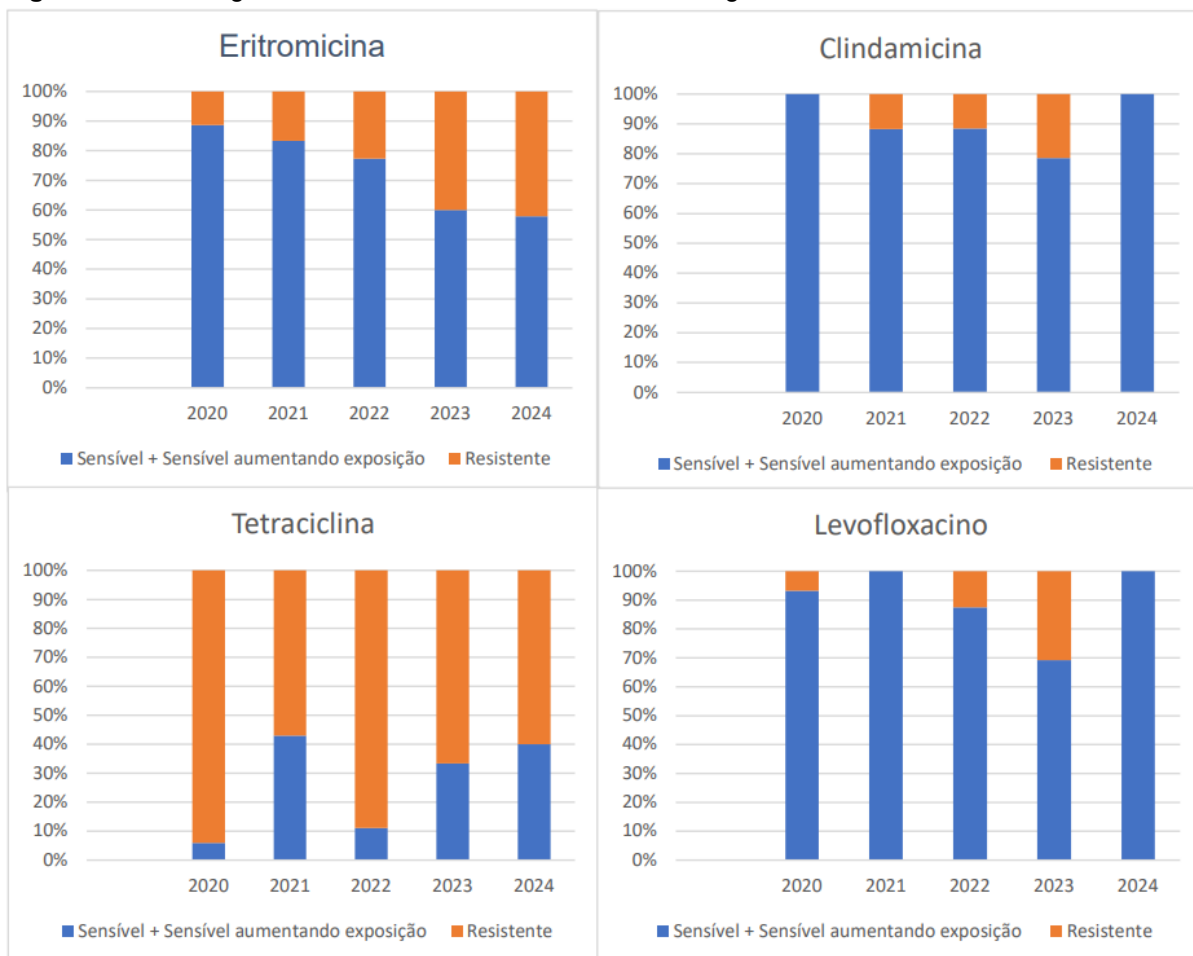
Em relação à tetraciclina, em 2020 5,9% (n=1) dos isolados foram suscetíveis, e 94,1% (n=16) resistentes. Em 2021, 42,9% (n=3) foram suscetíveis e 57,1% (n=4) foram resistentes. Em 2022, 11,1% (n=1) foram suscetíveis e 88,9% (n=8) foram resistentes. Em 2023, 33,3% (n=2) foram suscetíveis e 66,7% (n=4) foram resistentes. Em 2024, 40% (n=4) foram suscetíveis e 60% (n=6) foram resistentes.

Por último, quanto ao levofloxacino, em 2020 93,3% (n=14) dos isolados foram suscetíveis, e 6,7% (n=1) resistentes. Em 2021, 100% (n=49) dos isolados foram suscetíveis. Em 2022, 87,5% (n=7) foram suscetíveis e 12,5% (n=1) foram resistentes. Em 2023, a porcentagem de isolados suscetíveis caiu para 69,2% (n=9) e 30,8% (n=4) apresentaram resistência. Em 2024 100% dos isolados foram suscetíveis ao levofloxacino.

Nas análises estatísticas, o teste qui-quadrado de Pearson demonstrou existir diferença significativa na distribuição dos isolados resistentes a eritromicina ($p = 0,042$) e levofloxacino ($p = 0,002$) ao longo dos anos, indicando um aumento da

resistência de GBS a esses antimicrobianos. No que se refere à clindamicina ($p=0,058$) e tetraciclina ($p=0,125$), não se obteve diferença estatística significativa quanto às suas distribuições. Porém, é observada uma tendência de elevação da resistência à clindamicina. A figura 2 apresenta a visualização da porcentagem da resistência aos antimicrobianos durante os 5 anos do estudo.

Figura 2. Porcentagem da resistência aos antibióticos ao longo dos 5 anos.



Fonte: autor, 2024

5.4 Presença de genes de resistência

Ao longo do estudo, foram cedidos pela Unidade de Laboratório de Análises Clínicas (ULAC) do HULW 113 isolados para serem testados quanto à presença de determinantes de resistência às tetraciclinas e aos macrolídeos. Todos os isolados foram testados quanto à presença dos genes *tetM*, *tetO*, *ermTR*, *ermB* e *mef*.

Um total de 89 isolados apresentaram genes de resistência às tetraciclinas *tetO* e *tetM*. A figura 3 apresenta uma foto do gel de eletroforese da amplificação do

tetM, e a tabela 2 apresenta a prevalência desses genes por ano. Em um isolado (HU73) foi encontrada associação entre os dois genes. Não foram observadas diferenças significativas quanto à prevalência de *tetM* ao longo dos anos ($p=0,55$), bem como de *tetO* ($p=0,70$).

Da mesma forma, 27 isolados apresentaram genes de resistência a macrolídeos *ermB*, *ermTR* e *mef*. A tabela 3 apresenta a prevalência desses genes por ano. Um isolado (HU75) apresentou a presença de *mef* associado ao *ermB*, e outro isolado (GBS206) apresentou associação entre *ermB* e *ermTR*. Não foram observadas diferenças significativas quanto à prevalência ao longo dos anos de *ermTR* ($p=0,90$), *ermB* ($p=0,44$) e *mef* ($p=0,57$).

Tabela 2: Prevalência de genes de resistência às tetraciclinas em isolados de *Streptococcus agalactiae* obtidos de gestantes em um Hospital Universitário de João Pessoa, PB.

Ano	<i>tet(M)</i> N (%)	<i>tet(O)</i> N (%)	Total
2020	4 (100)	0 (0)	4
2021	56 (96,6)*	3 (5,2)*	58
2022	7 (100)	0 (0)	7
2023	18 (90,0)	2 (10,0)	20

*Isolado HU73 positivo para *tetM* e *tetO*.

Tabela 3: Prevalência de genes de resistência aos macrolídeos em isolados de *Streptococcus agalactiae* obtidos de gestantes em um Hospital Universitário de João Pessoa, PB.

Ano	<i>mef</i> N (%)	<i>erm(TR)</i> N (%)	<i>erm(B)</i> N (%)	Total
2020	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1
2021	14 (73,7) *	2 (10,5)*	4 (21,1)	19
2023	4 (57,1)	1 (14,3)**	3 (42,9) **	7

* Isolado HU75 positivo para *mef* e *ermB*, ** Isolado GBS206 positivo para *ermTR* e *ermB*.

Figura 3. Fotografia de gel de eletroforese revelado em transiluminador UV.



Fonte: autor, 2024

Nota: a banda de 359pb indica presença do gene *tetM* no isolado

6. DISCUSSÃO

Para as 1.323 culturas anovaginais incluídas no estudo, 158 foram positivas para *Streptococcus agalactiae*, revelando uma prevalência de 11,94%. A taxa de colonização por GBS descrita neste estudo foi inferior quando comparada aos outros trabalhos realizados no Brasil, que descreveram prevalências de 17,4% a 28,4% (Botelho *et al.*, 2018; Mendes, 2020; Melo *et al.*, 2018; Nascimento, 2016). Entretanto, em estudo realizado no Rio de Janeiro, a prevalência da colonização foi de 10,8% (Costa *et al.*, 2022). Outros dois estudos, em São Paulo e no Distrito Federal, obtiveram prevalências semelhantes, 14,6% e 14% respectivamente (Simões *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2019).

Na Argentina, foram obtidas prevalências semelhantes às descritas nesse estudo, com valores de 9,09% e 9,38% (Bobadilla *et al.*, 2021; Oviedo *et al.*, 2013). Na América do Norte, os valores de prevalência tendem a variar entre 19% a 24%, e na Europa, entre 12% a 24% (Russel *et al.*, 2017). As taxas mais altas de colonização por GBS foram encontradas no Caribe, em torno de 28% a 38% (Akpaka *et al.*, 2022; Russel *et al.*, 2017).

Vários fatores estão relacionados às variações na taxa de colonização anovaginal por *S. agalactiae*. A área geográfica é um fator importante, visto que os resultados podem variar até em diferentes regiões de um mesmo país. Além disso, a época da coleta e as diferenças étnicas e culturais da população estudada são fatores importantes (Bobadilla *et al.*, 2021; Botelho *et al.*, 2018; Nascimento, 2016). No Brasil, observa-se que a grande maioria dos estudos sobre a temática concentram-se na região sudeste, centro-oeste e sul do país, fato que evidencia a importância deste estudo e da obtenção de dados no estado da Paraíba.

No presente estudo, avaliou-se a colonização materna por GBS durante os anos de 2020 a 2024. A partir dos resultados obtidos, constatou-se que houve uma diferença significativa na prevalência da colonização ao longo dos anos. Destaca-se que as prevalências foram mais altas durante o período pandêmico, sobretudo em 2021, e nos anos seguintes ocorreu uma redução considerável, com 2023 apresentando a menor taxa de colonização (5%). Esses dados conflitam com dados obtidos por Costa *et al.* (2022) no Rio de Janeiro, no qual os autores observaram

uma diminuição significativa da colonização no período pandêmico. Já Werter *et al.* (2023), na Holanda, constatou que em 2021, a taxa de colonização por GBS permaneceu constante comparados aos anos pré pandemia. Shaw *et al.* (2023), em um estudo realizado em 30 países incluindo o Brasil, relatou que os casos de doença invasiva por *S. agalactiae* durante o período pandêmico (2020-2021) não sofreram alteração quando comparados aos anos pré-pandemia.

Algumas variáveis laboratoriais podem ser responsáveis pelas mudanças na prevalência da colonização por GBS, sendo elas: metodologia utilizada na coleta, qualidade do material coletado e também a técnica de isolamento utilizada. De acordo com a Sociedade Americana de Microbiologia (2021), a coleta deve ser realizada entre a 36^a e 37^a semana de gestação, e o material obtido da região vaginal e anal, de forma a aumentar o rendimento da cultura consideravelmente quando comparada à coleta apenas na região vaginal. Aila *et al.* (2010) e Marconi *et al.* (2010), em estudos com gestantes, observaram que a taxa de colonização foi estatisticamente maior em amostras anovaginais, quando comparadas às apenas vaginais. Ainda, a incubação em caldo enriquecido antes do plaqueamento aumenta em cerca de duas vezes a sensibilidade da detecção de GBS, e a utilização de meios seletivos e específicos para *S. agalactiae* também podem otimizar o seu isolamento (ASM, 2021).

Em relação ao perfil de susceptibilidade antimicrobiana, todos os isolados de GBS deste estudo foram sensíveis à penicilina e/ou ampicilina, em concordância com outros estudos realizados no Brasil (Botelho *et al.*, 2018; Mendes, 2020; Simões *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2019). Apesar de haver relatos de susceptibilidade reduzida à penicilina em alguns países, o *S. agalactiae* ainda é universalmente sensível aos beta-lactâmicos, que permanece sendo a principal alternativa para tratamento de infecções e para a PAI (Botelho *et al.*, 2018; Kimura *et al.*, 2008; Simões *et al.*, 2007).

A resistência à tetraciclina neste estudo foi alta, 73,3% ao todo, e não foram constatadas diferenças significativas ao longo dos anos. Tais resultados estão de acordo com os valores observados em diversos estudos no Brasil e em outros países, com resistências de 76% a 94,5% (Alves, 2018; Bolukaoto *et al.*, 2015; Corrêa *et al.*, 2011; Hernandez, *et al.*, 2022; Zakerifar *et al.*, 2023). Considerando os resultados das PCRs, o *tetM* foi o gene predominante nos isolados resistentes à tetraciclina, encontrado em 95,5% dos casos. Em 5,6% dos isolados foi encontrado

o gene *tetO*. Houve a presença de associação entre os genes *tetM* e *tetO* em um isolado, tal associação também foi observada por Dutra *et al.* (2014).

Estudos demonstram que *tetM* é o determinante de resistência à tetraciclina predominante quando se trata de cepas de *S. agalactiae* de origem humana (Meroni *et al.*, 2022; Mundzana; Mavenyengwa; Gudza-Mugabe, 2021; Hernandez *et al.*, 2022). Já o *tetO* é encontrado com menos frequência em isolados de origem humana, e mais relatado em cepas de GBS causadoras de mastite bovina (Duarte *et al.*, 2004).

Há uma emergência na resistência à eritromicina demonstrada estatisticamente neste trabalho. Em 2020, 11,4% dos isolados foram categorizados resistentes, e ao longo do período estudado, a taxa de resistência aumentou e atingiu o seu valor máximo em 2024, com 42,1%. Uma alta resistência à eritromicina já era observada em vários locais como Ásia, África e América do Norte em anos anteriores a 2020, com taxas de de 30% a 50% de resistência (Back; O'Grady; Back, 2012; Mundzana; Mavenyengwa; Gudza-Mugabe, 2021; Kimura *et al.*, 2013; Zakerifar *et al.*, 2023). No Brasil, entretanto, durante os anos anteriores à 2020 eram predominantes valores de resistência à eritromicina entre 0% e 14% (Botelho *et al.*, 2018; Corrêa *et al.*, 2011; Dutra *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2013).

Considerando os resultados das PCRs, o mecanismo de resistência de bomba de efluxo associado ao gene *mef* foi o principal responsável pela resistência à eritromicina, semelhante ao observado por Barros *et al.* (2024) no Brasil. Em outro estudo brasileiro, Botelho *et al.* (2018) também observou que o fenótipo M foi o prevalente na resistência à eritromicina. Entretanto, há trabalhos que obtiveram os genes *ermTR* ou *ermB* em maiores frequências, evidenciando a prevalência do fenótipo MLS (Alves, 2018; Dutra *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2013; Zakerifar *et al.*, 2023). Neste estudo, é observada uma elevação na proporção de isolados carreando genes *ermB* ao longo do período, o que pode sugerir uma mudança no perfil fenotípico de resistência com elevação de isolados MLSb. Ainda, houve a presença de associação entre os genes *ermB* e *ermTR* em um isolado, e *mef* e *ermB* em outro isolado. Tais associações entre os determinantes de resistência à macrolídeos é relatada também em outros estudos, indicando a presença de mais de um mecanismo de resistência na cepa (Alves, 2018; Pinto *et al.*, 2013; Zakerifar *et al.*, 2023).

Quanto à clindamicina, a taxa de resistência geral obtida foi de 8,92%, e o ano de 2023 apresentou a maior prevalência, com 21,4%. Neste estudo observou-se uma tendência de aumento da resistência que precisa ser melhor investigada, embora não seja estatisticamente significativa. Os resultados obtidos foram mais elevados que os descritos em outras regiões do Brasil (Botelho *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2022; Mendes, 2020) e inferiores aos descritos em outros países (Back; O'Grady; Back, 2012; Bolukaoto *et al.*, 2015; Mundzana; Mavenyengwa; Gudza-Mugabe, 2021).

Após a pandemia da Covid-19, observou-se um aumento de microrganismos multirresistentes como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamases e entre outros (Lai *et al.*, 2021). Além disso, as taxas de resistência antimicrobiana em diversas bactérias têm se elevado. Um estudo com *Streptococcus pneumoniae* no Brasil durante os períodos pré pandêmico e pandêmico observou uma elevação significativa na resistência a múltiplos antibióticos como penicilina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina e ceftriaxona (Almeida *et al.*, 2024). Em relação ao *S. agalactiae*, foram descritas no Brasil taxas crescentes de resistência à eritromicina pós pandemia. Um estudo no Rio de Janeiro durante os anos de 2020 a 2023 relatou um aumento na resistência à eritromicina, no qual as prevalências variaram de 17,6% para 37,5%, enquanto a resistência à clindamicina permaneceu constante (Barros *et al.*, 2024).

Tais mudanças nos perfis de susceptibilidade podem estar relacionadas ao uso generalizado de antibióticos no período pandêmico. Embora os relatos de infecções bacterianas tenham sido reduzidos, o uso de antimicrobianos em pacientes diagnosticados com COVID-19 no sistema de saúde foi notavelmente alto (Rodríguez-Baño *et al.*, 2021). Além disso, a incerteza e o pânico com relação à doença provocou um aumento, em pacientes não hospitalizados, pela busca de antibióticos para automedicação. No Brasil, o uso de macrolídeos como azitromicina para tratamento e tentativa de prevenção da COVID-19 ocorreu em larga escala, o que pode explicar o aumento da resistência bacteriana à eritromicina (Barros *et al.*, 2024).

O uso de macrolídeos não é mais recomendado pelas diretrizes para a profilaxia antibiótica de GBS. Entretanto, a diminuição de sua susceptibilidade é uma questão preocupante em decorrência do fenótipo de resistência cruzada à

clindamicina, fenótipo MLSb, podendo resultar em limitação da segunda linha terapêutica para o tratamento e profilaxia de GBS.

Em relação ao levofloxacino, constatou-se que houve aumento significativo na sua taxa de resistência ao longo dos anos do estudo. A taxa de resistência geral obtida foi de 10%, com o ano de 2023 apresentando o maior valor, 30,8%. Esse valor é alto quando comparado a estudos em outras regiões do Brasil, que obtiveram valores de 0% a 5% de resistência (Botelho *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2022; Corrêa *et al.*, 2011). Em decorrência de sua atividade efetiva contra bactérias Gram-positivas, as fluoroquinolonas se configuraram alternativa de tratamento para diversas infecções, levando em consideração o aumento da resistência aos antimicrobianos tradicionais (Hernandez, *et al.*, 2022). Logo, emergiram cepas de *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *Enterococcus* resistentes às fluoroquinolonas. (Ki *et al.*, 2012). Quanto ao *S. agalactiae*, cepas com resistência crescente à fluoroquinolonas têm sido relatadas em diversos países mesmo antes da pandemia da COVID-19 (Zakerifar *et al.*, 2023; Hayes; O'Halloran; Cotter, 2020; Ki *et al.*, 2012), o que evidencia a necessidade de uma maior vigilância da susceptibilidade a essa classe de antimicrobianos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, estima-se que 60% da mortalidade infantil ocorra no período neonatal, com a sepse sendo uma das principais causas de óbito (ANVISA, 2017). O *Streptococcus agalactiae* é uma importante causa global de infecção e sepse neonatal. Nesse contexto, estudos acerca desse patógeno são relevantes para a saúde pública, e podem auxiliar na promoção de uma melhor vigilância e prevenção da doença neonatal.

A partir dos resultados deste estudo, observou-se uma prevalência de 11,94% de gestantes colonizadas por *S. agalactiae* entre janeiro de 2020 a junho de 2024. Observou-se que as taxas foram mais altas durante o período pandêmico e variáveis como época, local, diferenças étnicas e diferenças culturais da população estudada são importantes e podem justificar mudanças na prevalência e susceptibilidade em diferentes regiões. É importante o monitoramento da prevalência durante os meses restantes de 2024, bem como os anos seguintes para se avaliar o comportamento subsequente da prevalência.

Foi relatado um aumento significativo na resistência à eritromicina e levofloxacino pós pandemia. Uma tendência de aumento também foi observada para clindamicina em associação com gene *ermB*. O uso em larga escala de antimicrobianos para tratamento de pacientes hospitalizados com Covid-19, bem como a automedicação de forma errônea para prevenção da doença contribuíram para o surgimento das cepas resistentes.

Pesquisas de determinação da suscetibilidade antimicrobiana em *S. agalactiae* são de extrema importância ao se levar em consideração a emergência de cepas resistentes deste patógeno em todo o mundo. Além disso, monitorar as taxas de resistência e estudar os seus mecanismos moleculares oferece um perfil epidemiológico do *S. agalactiae* que pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de tratamento da infecção, bem como vacinas e antibioticoterapias alternativas.

Por fim, visto que há uma carência de estudos regionais, é necessário que a comunidade acadêmica brasileira produza mais trabalhos sobre o tema. Traçar o perfil do *S. agalactiae* na Paraíba, e suas características epidemiológicas locais pode contribuir para o avanço da saúde pública no estado, e possibilitar uma maior eficiência no tratamento precoce efetivo e profilaxia de GBS.

REFERÊNCIAS

AILA, N. A. EL *et al.* Comparison of different sampling techniques and of different culture methods for detection of group B *Streptococcus* carriage in pregnant women. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 285, 2010.

AKPAKA, P. E. *et al.* Colonization of *Streptococcus agalactiae* among pregnant patients in Trinidad and Tobago. **IJID Regions**, v. 3, p. 96–100, 2022.

ALMEIDA, S. C. G. *et al.* Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Streptococcus pneumoniae* in COVID-19 Pandemic Era in Brazil. **Microorganisms**, v. 12, n. 2, 2024.

ALVES, E. V. **Determinação molecular dos sorotipos capsulares e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em *Streptococcus agalactiae* isolados de pacientes atendidos no Hospital Universitário/UFSC na cidade de Florianópolis/SC.** 2018. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. **Guidelines for the Detection and Identification of Group B *Streptococcus*.** 2021. Disponível em: <https://asm.org/Guideline/Guidelines-for-the-Detection-and-Identification-of>. Acesso em: 25 jul. 2024.

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS. Committee Opinion n° 797: **Prevention of Group B Streptococcal Early-Onset Disease in Newborns.** Obstetrics & Gynecology, v. 135, n. 4, p. e51 - 72, abr. 2020. Disponível em: <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/committee-opinion/articles/2020/02/prevention-of-group-b-streptococcal-early-onset-disease-in-newborns>. Acesso em: 10 ago.2024

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios Diagnósticos de Infecção Associada à Assistência à Saúde Neonatologia.** 2ºed, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/caderno-3-criterios-diagnosticos-de-infeccao-associada-a-assistencia-a-saude-neonatologia.pdf>. Acesso em: 30 out. 2024.

BACK, E.E. O'GRADY, E. J. BACK. J. D. High Rates of Perinatal Group B *Streptococcus* Clindamycin and Erythromycin Resistance in an Upstate New York Hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 2, 2012.

BALSALOBRE, L. C. **Resistência a tetraciclinas em isolados clínicos e ambientais de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Aeromonas* spp.:** identificação e mapeamento do ambiente genético de genes tet. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

BARROS, R. R. *et al.* Macrolide resistance among *Streptococcus agalactiae* during COVID-19 public health emergency in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2. pp. 1445–1449, 2024.

BOBADILLA, F. J. *et al.* Prevalence, serotypes and virulence genes of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women with 35–37 weeks of gestation. **BMC Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p. 73, 2021.

BOLUKAOTO, John Y *et al.* Antibiotic Resistance of *Streptococcus Agalactiae* Isolated from Pregnant Women in Garankuwa, South Africa. **BMC Research Notes**, África do Sul, v. 8, n. 1, p. 364, 2015.

BORGHESI, A.; STRONATI, M.; FELLAY, J. Neonatal Group B Streptococcal Disease in Otherwise Healthy Infants: Failure of Specific Neonatal Immune Responses. **Frontiers in immunology**, v. 8, 2018.

BOTELHO, A. C. *et al.* *Streptococcus agalactiae* Carriage among Pregnant Women Living in Rio de Janeiro, Brazil, over a Period of Eight Years. **Plos one**, v. 13, n. 5, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Ações Programáticas. **Manual de gestação de alto risco**. 1ªed. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.

BROOKS, G. F. *et al.* **Microbiologia Médica**. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2014.

BRCast - Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos. **Método de disco-difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos**. jan 2024. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CORRÊA, A. B. A. *et al.* The Genetic Diversity and Phenotypic Characterisation of *Streptococcus Agalactiae* Isolates from Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 8, pp. 1002–6, 2011.

COSTA, N. S. *et al.* Changes in Group B *Streptococcus* Colonization among Pregnant Women before and after the Onset of the COVID-19 Pandemic in Brazil. **Pathogens**, v. 11, n. 10, p. 1104, 27 set. 2022.

CRESPINO-ORTIZ, M. D. P. *et al.* Emerging trends in invasive and non-invasive isolates of *Streptococcus agalactiae* in a Latin American hospital: a 17-year study. **BMC Infectious Diseases**, Colômbia, v. 14, n. 1, 2014.

DAHESH, S. *et al.* Point mutation in the group B streptococcal *pbp2x* gene conferring decreased susceptibility to β -lactam antibiotics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 8, 2008.

DEPARDIEU, F. *et al.* Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 1, p. 79–114, 2007.

DUARTE, R. S. *et al.* Phenotypic and molecular characteristics of *Streptococcus Agalactiae* isolates recovered from milk of dairy cows in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, pp. 4212-4222, 2004.

DUTRA, V. G. *et al.* *Streptococcus agalactiae* in Brazil: serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2014.

EMANEINI, M. *et al.* High Incidence of Macrolide and tetracycline Resistance among *Streptococcus Agalactiae* Strains Isolated from Clinical Samples in Tehran, Iran. **Maedica: a journal of clinical medicine**, v. 9, n. 2, p. 157-161, 2014.

FIORELLA, Bianchi-Jassir *et al.* Systematic review of Group B Streptococcal capsular types, sequence types and surface proteins as potential vaccine candidates. **Vaccine**, v.38, n. 43, p. 6682–6694, 7 out. 2020.

GAUDREAU, C. *et al.* Prosthetic hip joint infection with a *Streptococcus agalactiae* isolate not susceptible to penicillin G and ceftriaxone. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Canadá, v. 65, n. 3, pp. 594-595, 2009.

HAYES, K.; O'HALLORAN, F.; COTTER, L. A review of antibiotic resistance in Group B *Streptococcus*: the story so far. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 46, nº 3, p. 253-269, 2020.

HAYS, C. *et al.* Changing Epidemiology of Group B *Streptococcus* Susceptibility to Fluoroquinolones and Aminoglycosides in France. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 12, p. 7424–7430, 2016.

HERNANDEZ, L. B. *et al.* Virulence Profiles and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus agalactiae* Infective and Colonizing Strains from Argentina. **Current Microbiology**, Argentina, v. 79, n. 12, 2022.

IMPERI, M. *et al.* A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 80, n. 2, p. 212–214, 2010.

JIN, T. *et al.* Crystal structure of the *Streptococcus agalactiae* CAMP factor provides insights into its membrane-permeabilizing activityX-ray structure of CAMP factor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 19, p. 11867-11877, 2018.

KI, M. *et al.* Emerging fluoroquinolone resistance in *Streptococcus agalactiae* in South Korea. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 31, n. 11, p. 3199–3205, 4 nov. 2012.

KIMURA, K. *et al.* First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 8, 2008.

KIMURA, K. *et al.* High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 68, n. 3, 2013.

LAI, C. C. *et al.* Increased antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.57, n.4, 2021.

LAMBALLERIE, X. *et al.* A One-Step Microbial DNA Extraction Method Using ‘Chelex 100’ Suitable for Gene Amplification. **Research in Microbiology**, v. 143, n. 8, p. 785–90, 1992.

LYHS, U. *et al.* *Streptococcus agalactiae* Serotype IV in Humans and Cattle, Northern Europe. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 12, 2016.

MARCONI, C. *et al.* Detection of *Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women by using combined swab cultures: cross-sectional prevalence study. **São Paulo Medical Journal**, v. 128, n. 2, p. 60–62, 2010.

MARIMON, J. *et al.* Erythromycin resistance and genetic elements carrying macrolide efflux genes in *Streptococcus agalactiae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Espanha, v.49, pp. 5069 – 74, 2005.

MELO, S. C. C. S. DE *et al.* Prevalence of *Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women from the 18th Health Region of Paraná State. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, n. 1, 2018.

MENDES, S.M.C. **Colonização por estreptococo grupo B em gestantes de um hospital do município de Parnaíba-Pi, Brasil.** 2020. Tese (Doutorado em ciências). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

MERONI, G. *et al.* Epidemiology of Antimicrobial Resistance Genes in *Streptococcus agalactiae* Sequences from a Public Database in a One Health Perspective. **Antibiotics**, v. 11, n. 1236, 2022

MORGAN, J. A.; ZAFAR, N.; COOPER, D. B. Group B *Streptococcus* And Pregnancy. **StatPearls**, 2021.

MOROZUMI, M. *et al.* Molecular Characteristics of Group B Streptococci Isolated from Adults with Invasive Infections in Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, Japão, v. 54, n. 11, pp. 2695–2700, 2016.

MUNDZANA, R. MAVENYENGWA, R.T. GUDZA-MUGABE, M. Analysis of virulence factors and antibiotic resistance genes in group B *Streptococcus* from clinical samples. **BMC infectious diseases**, v. 21, n. 125, 2021.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 8ªed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

NASCIMENTO, C. S. ***Streptococcus agalactiae*: distribuição sorotípica e relação com fatores de virulência e resistência antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

OVIEDO, P. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: first study in a province of Argentina. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 253–258, 2013.

PEREZ-TRALLERO, E. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates displaying the MLSB phenotype of macrolide resistance in Spain, 1999 to 2005. **Journal of Clinical Microbiology**, Espanha, v. 51, p.1228–33, 2007.

PIMENTEL, Bruna Alves da Silva. **Avaliação de aspectos clínico-epidemiológicos e de patogenicidade de *Streptococcus agalactiae* isolados de gestantes e neonatos**. 2023. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2023

POGERE, A. *et al.* Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em Ambulatório de pré-natal. *Rev Bra Ginecol Obstet*, v. 27, n. 4, p. 174- 6, 2005.

PINTO, T. C. A. *et al.* Distribution of serotypes and evaluation of antimicrobial susceptibility among human and bovine *Streptococcus agalactiae* strains isolated in Brazil between 1980 and 2006. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 131-136, 2013.

POYART, C. *et al.* Genetic basis of antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* strains isolated in a French hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, França, v. 47, n. 2, p. 794-797, 2003.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Koneman Diagnóstico Microbiológico** - Texto e Atlas. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

RAABE, V. SHANE, A. Group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*). **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 9, 2019

RODRIGUEZ-BAÑO, J. *et al.* Key considerations on the potential impacts of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance research and surveillance. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 115, n. 10, p. 1122–1129, 2021.

ROSA-FRAILE, M. R. SPELLERBERG, B. Reliable Detection of group B *Streptococcus* in the Clinical Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 9, 2017. (ROSA-FRAILE; SPELLERBERG, 2017)

RUSSELL, N. J. *et al.* Maternal Colonization With Group B *Streptococcus* and Serotype Distribution Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 2, p. S100–S111, 6 nov. 2017.

SHAW, D. *et al.* Trends in invasive bacterial diseases during the first 2 years of the COVID-19 pandemic: analyses of prospective surveillance data from 30 countries and territories in the IRIS Consortium. **The Lancet Digital Health**, v. 5, n. 9, p. e582–e593, set. 2023.

SIMÕES, J. A. *et al.* Phenotypical characteristics of group B *streptococcus* in parturients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 261–266, abr. 2007.

SIQUEIRA, F. *et al.* Prevalence of colonisation by group B *streptococcus* in pregnant patients in Taguatinga, Federal District, Brazil: a cross-sectional study. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 299, n. 3, p. 703–711, 17 mar. 2019.

Tavares, T. Pinho, L. Andrade, E. Group B Streptococcal Neonatal Meningitis. **ASM Journals - Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 2, 2022.

TEATERO, S. *et al.* Serotype Distribution, Population Structure, and Antimicrobial Resistance of Group B *Streptococcus* Strains Recovered from Colonized Pregnant Women. **Journal of Clinical Microbiology**, Canadá, v. 55, n. 2, pp. 412–422, 2017.

WERTER, D. E. *et al.* Changes in the Prevalence of Infection in Pregnant Women during the COVID-19 Lockdown. **Microorganisms**, v. 11, n. 8, p. 1973, 2023.

ZAKERIFAR, M. *et al.* Antibiotic resistance genes and molecular typing of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 43, 2023.