



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

INSTITUTO BIOMÉDICO

GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CLARISSA CAMPOS BARROS

INVESTIGAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS ENTRE AMOSTRAS
DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADAS DE GESTANTES DURANTE A EMERGÊNCIA
INTERNACIONAL DE COVID-19

Niterói

2023

CLARISSA CAMPOS BARROS

INVESTIGAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS ENTRE AMOSTRAS
DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADAS DE GESTANTES DURANTE A EMERGÊNCIA
INTERNACIONAL DE COVID-19

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal Fluminense, como parte das
exigências do curso de Biomedicina para obtenção do
grau de Bacharel em Biomedicina – Habilitação em
Análises Clínicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosana Rocha Barros

Niterói

2023

Ficha catalográfica automática - SDC/BIB
Gerada com informações fornecidas pelo autor

B277i Barros, Clarissa Campos
INVESTIGAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS ENTRE
AMOSTRAS DE Streptococcus agalactiae ISOLADAS DE GESTANTES
DURANTE A EMERGÊNCIA INTERNACIONAL DE COVID-19 / Clarissa
Campos Barros. - 2023.
50 f.: il.

Orientador: Rosana Rocha Barros.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação)-Universidade
Federal Fluminense, Instituto Biomédico, Niterói, 2023.

1. Microbiologia. 2. Streptococcus agalactiae. 3.
Resistência aos antimicrobianos. 4. COVID-19. 5. Produção
intelectual. I. Rocha Barros, Rosana, orientadora. II.
Universidade Federal Fluminense. Instituto Biomédico. III.
Título.

CDD - XXX

CLARISSA CAMPOS BARROS

INVESTIGAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS ENTRE AMOSTRAS
DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADAS DE GESTANTES DURANTE A EMERGÊNCIA
INTERNACIONAL DE COVID-19

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal Fluminense, como parte das
exigências do curso de Biomedicina para obtenção do
grau de Bacharel em Biomedicina – Habilitação em
Análises Clínicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Rosana Rocha Barros – UFF (Orientadora)

Prof. Dr. Bruno Francesco Rodrigues de Oliveira – UFF (Titular)

Prof^a. Dr^a. Aline Rosa Vianna de Souza – UFF (Titular)

Prof^a. Dr^a. Cláudia Rezende Vieira Mendonça de Souza – UFF (Suplente)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pelo dom da vida, amor, cuidado e misericórdia, por direcionar os meus caminhos e me proporcionar forças nos momentos mais difíceis.

À Universidade Federal Fluminense por me proporcionar a oportunidade de concluir uma graduação e por todas as experiências vividas e à Coordenação de Graduação em Biomedicina.

À minha querida avó, Anidéa, por ter sido meu maior exemplo durante toda a minha vida. Você hoje não se encontra mais aqui, mas sempre me incentivou e me apoiou, sem hesitação, e ficará para sempre em meu coração e memória.

À minha mãe, Suzana, meu agradecimento por todo amor, cuidado, auxílio, direcionamento e por impulsionar os meus sonhos para que eles se realizem. À minha irmã, Letícia, por sempre me apoiar e compartilhar comigo vários momentos, conhecimentos e alegrias ao longo de toda a minha vida e graduação. À minha querida sobrinha Maitê, pela fofura e alegria que deposita em meus dias.

A todos os meus familiares, inclusive os que não estão mais aqui.

Ao meu companheiro, Jórdy, por todo o amor, carinho, compreensão e por estar ao meu lado me apoiando e me ajudando sempre que preciso ao longo de toda a minha jornada acadêmica.

Aos meus amados filhos felinos, por terem sido fontes de muita alegria, amor e suporte.

Aos meus queridos amigos, antigos e novos, que sempre me apoiaram e torceram pelo meu sucesso.

À minha querida orientadora, Rosana, a quem muito admiro, por todo o aprendizado adquirido ao longo desta jornada, incentivo, carinho, conselhos, paciência e confiança a mim depositada. Muito obrigada pela sua presença constante, compromisso, seriedade com a pesquisa e por compartilhar comigo o seu conhecimento e me inspirar a buscar sempre mais.

RESUMO

Streptococcus agalactiae ou estreptococo do grupo B (EGB) é considerado um importante agente etiológico de infecções neonatais graves. Desde 1996, o *American College of Obstetricians and Gynecologists* e o *Centers for Disease Control and Prevention* estabeleceram as principais diretrizes para a profilaxia da infecção estreptocócica neonatal, que consistem na triagem universal de gestantes e na antibioticoprofilaxia intraparto (API) baseada na administração da penicilina. No Brasil, o Ministério da Saúde, recomenda a adoção dessas medidas em gestantes em risco de trabalho de parto prematuro e a API das gestantes colonizadas e em casos de risco de sepse neonatal. Diante da relevância das infecções neonatais por EGB, da mortalidade associada e suas sequelas, do aumento do consumo de macrolídeos durante a pandemia de COVID-19 e dos relatos de resistência e/ou suscetibilidade reduzida aos antimicrobianos recomendados na API, a investigação do perfil de suscetibilidade das amostras se faz essencial e pode subsidiar a implantação de políticas públicas de prevenção da infecção. O objetivo deste estudo foi investigar a resistência aos antimicrobianos entre amostras de EGB, isoladas de gestantes durante a Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) de COVID-19. Outros objetivos incluem: avaliar o comportamento das amostras frente aos antimicrobianos recomendados para a API e contra infecções, investigar os fenótipos e os genótipos de resistência aos macrolídeos e comparar os critérios nacional (BrCAST) e internacional (CLSI) de interpretação dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA). Fizeram parte deste estudo 116 amostras bacterianas que foram submetidas a testes fenotípicos para a identificação da espécie. O TSA foi realizado pela técnica disco-difusão segundo critérios do CLSI. Foi detectada resistência à clindamicina (5,1%), eritromicina (25,8%), levofloxacina (3,4%) e tetraciclina (73,2%). As principais discrepâncias entre os dois critérios de interpretação foram: a ausência de diferenciação entre amostras intermediárias e resistentes para a tetraciclina, clindamicina e eritromicina pelo BrCAST e a diferença entre os pontos de corte para a levofloxacina. Entre as amostras não suscetíveis à eritromicina, constatou-se a prevalência do fenótipo M associado ao gene *mefA*. Seis (5,1%) amostras foram consideradas multirresistentes, incluindo as opções terapêuticas mais recomendadas na API e tratamento de infecções. Os dados obtidos evidenciam a importância de incluir, durante o pré-natal realizado no país, a triagem da colonização por EGB com avaliação do comportamento das amostras frente aos antimicrobianos durante as análises realizadas em laboratórios de microbiologia a fim de garantir o tratamento adequado e a eficácia da API.

Palavras-chave: *S. agalactiae*; Antimicrobianos; Resistência; Gestantes; COVID-19.

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae or group B streptococci (GBS) is an important etiological agent of severe neonatal infections. Since 1996, the American College of Obstetricians and Gynecologists and the Centers for Disease Control and Prevention have established the main guidelines for prophylaxis of neonatal streptococcal infections, which consist in universal screening of pregnant women and intrapartum antibiotic prophylaxis (IPA) based on the administration of penicillin. In Brazil, the Ministry of Health recommends the adoption of these measures in pregnant women at risk of premature labor and IPA for colonized pregnant women. Given the relevance of neonatal GBS infection, associated mortality and its sequelae, the increased consumption of macrolides during the COVID-19 pandemic and reports of resistance and/or reduced susceptibility to antimicrobials recommended in the IPA, the investigation into the susceptibility profile of samples is essential and can support the implementation of public policies to prevent infection. The aim of this study was to investigate antimicrobial resistance among GBS strains isolated from pregnant women during the COVID-19 Public Health Emergency of International Importance (PEHEIC). Other objectives include: evaluating the strains behavior against antimicrobials recommended for IPA and therapy against infections, investigating the phenotypes and genotypes of macrolide resistance and comparing the national (BrCAST) and international (CLSI) criteria for interpreting susceptibility tests to antimicrobials (AST). This study included 116 isolates that were subjected to phenotypic tests to identify the species. AST was performed using the disk-diffusion technique according to CLSI criteria. Resistance to clindamycin (5,1%), erythromycin (25,8%), levofloxacin (3,4%) and tetracycline (73,2%) was detected. The main discrepancies among the both interpretation criteria were noticed when analyzing the following antimicrobials: tetracycline, clindamycin, erythromycin and levofloxacin. BrCAST did not distinguish intermediate and resistant strains for some antimicrobials (tetracycline, clindamycin, erythromycin) and also indicate a different cutoff points for levofloxacin resistance. The M phenotype was prevalent among erythromycin non-susceptible strains (*mefA*). Six (5,1%) strains were considered multidrug-resistant, including the most recommended therapeutic options for IPA and treatment of infections. The data obtained highlight the importance of including, during prenatal care in the country, screening for GBS colonization with assessment of the behavior of strains against antimicrobials during analyzes in microbiology laboratories in order to guarantee adequate treatment and IPA effectiveness.

Keywords: *S. agalactiae*; Antimicrobials; Resistance; Pregnant women; COVID-19.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg: Micrograma

mL: Mililitro

AAP: “*American Academy of Pediatrics*”

ACOG: “*American College of Obstetricians and Gynecologists*”

API: Antibioticoprofilaxia intraparto

ASM: “*American Society for Microbiology*”

BrCAST: “*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*”

CAMP: “*Christie, Atkins e Munch-Petersen*”

CDC: “*Centers for Disease Control and Prevention*”

CLSI: “*Clinical and Laboratory Standards and Prevention*”

CMI: Concentração Inibitória Mínima

COVID-19: “*CoronaVirus Disease*”

EGB: Estreptococo do grupo B de Lancefield

ESPII: Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional

erm: “*Erythromycin ribosomal methylase*”

GBS: “*Group B streptococci*”

HUAP: Hospital Universitário Antônio Pedro

IFF: Instituto Fernandes Figueira

Maldi-Tof: “*Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight*”

MDR: “*multidrug resistant*”

MLS_B: Macrolídeos, lincosamida e estreptogramina do tipo B

MLS_{Bc}: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B constitutivo

MLS_{Bi}: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B indutivo

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: “*Polymerase Chain Reaction*”

THB: Caldo *Todd-Hewitt*

TSA: Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos

UV: Ultravioleta

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Transmissão vertical em gestantes colonizadas por <i>S. agalactiae</i>	13
Figura 2. Principais manifestações associadas às infecções neonatais e infecções em gestantes causadas por EGB.....	14
Figura 3. Fenótipos de resistência aos macrolídeos em <i>S. agalactiae</i>	20
Figura 4. Distribuição do quantitativo de amostras analisadas durante o período analisado de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19	23
Figura 5. Disposição dos discos de antimicrobianos para o TSA	25
Figura 6. Interpretação do comportamento frente aos antimicrobianos de acordo com os critérios do CLSI e BrCAST	30
Figura 7. Distribuição dos fenótipos de resistência aos macrolídeos encontrados entre as amostras analisadas ao longo do período de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Antimicrobianos utilizados no TSA, sua concentração e pontos de corte do diâmetro dos halos de inibição segundo o CLSI e o BrCAST em 2023.....	26
Tabela 2. Concentração dos reagentes utilizados na reação de amplificação.....	28
Tabela 3. Sequência de primers utilizados na PCR.....	28
Tabela 4. Perfil de suscetibilidade das amostras multirresistentes (MDR) encontradas.....	31
Tabela 5. Distribuição dos fenótipos e genótipos de resistência aos macrolídeos entre as amostras de EGB.....	32

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Gênero <i>Streptococcus</i>	10
1.2 <i>Streptococcus agalactiae</i>	11
1.3 Importância de EGB como um patógeno neonatal.....	12
1.4 Prevenção da infecção estreptocócica neonatal.....	15
1.5 Resistência aos antimicrobianos entre <i>S. agalactiae</i>	18
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo geral.....	21
2.2 Objetivos específicos.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1 Amostras Bacterianas.....	22
3.2 Confirmação presuntiva da espécie.....	23
3.3 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA).....	24
3.4 Investigação da Concentração Mínima Inibitória (CMI):.....	26
3.5 Investigação dos determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos.....	27
4. RESULTADOS.....	29
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 Gênero *Streptococcus*

O gênero *Streptococcus* é formado por bactérias cujas células têm o formato de cocos, que podem ser agrupados em pares ou cadeias. São gram-positivas, catalase negativas, oxidase negativas, anaeróbias facultativas e homofermentadoras. Algumas espécies são capnofílicas, ou seja, são capazes de crescer numa atmosfera enriquecida com dióxido de carbono (CO₂). Os estreptococos são considerados nutricionalmente exigentes, o que os fazem necessitar de meios enriquecidos, utilizando por exemplo, a adição de sangue ou glicose para otimizar o seu crescimento (KONEMAN, 2018).

As espécies deste gênero podem ser encontradas no meio ambiente ou colonizando animais e seres humanos. Muitas delas são membros da microbiota humana e várias destas podem atuar como patobiontes e/ou agentes de infecções, e por isso, são consideradas importantes patógenos humanos (TEIXEIRA *et al.*, 2015; KONEMAN, 2018).

Streptococcus spp. podem ser classificados de acordo com suas propriedades fisiológicas e antigênicas. Segundo a classificação sorológica de Lancefield, tais espécies podem ser diferenciadas por meio de suas características antigênicas a partir do carboidrato de parede celular, genericamente denominado carboidrato C, que pode ser determinado por métodos imunológicos. Nesta classificação existem 20 grupos sorológicos (Grupos de Lancefield) que são designados por letras alfabéticas maiúsculas, de A a V (TEIXEIRA *et al.*, 2015).

Outra importante característica é a capacidade hemolítica das espécies, isto é, o tipo de lise que é provocada nos eritrócitos pelo crescimento bacteriano das amostras nos meios de cultura enriquecidos com sangue. De acordo com esta classificação, os estreptococos podem ser divididos em: alfa-hemolíticos quando provocam hemólise parcial, beta-hemolíticos quando provocam hemólise total e não-hemolíticos quando não provocam hemólise (KONEMAN, 2018).

1.2 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae, também conhecido como estreptococos do grupo B (EGB) ou GBS (do inglês, *group B streptococci*), é uma espécie beta-hemolítica que apresenta o antígeno do grupo B de Lancefield, composto por ramnose, *N*-acetilglicosamina e galactose. EGB possui características morfológicas, nutricionais e fisiológicas semelhantes às outras espécies de seu gênero, porém também possui particularidades, como: a capacidade de hidrolisar o hipurato de sódio e a produção do fator CAMP. Estas características servem como base para testes fenotípicos de identificação da espécie (KONEMAN, 2018; TEIXEIRA *et al.*, 2015).

O fator CAMP, cujo nome origina-se das iniciais dos nomes dos pesquisadores que o descobriram (*Christie, Atkins, Munch e Peterson*), é uma proteína considerada fator de virulência devido a sua capacidade de se ligar às imunoglobulinas G e M via fração Fc. Ela também potencializa a capacidade hemolítica da beta-lisina de *Staphylococcus aureus*, uma esfingomielinase que causa poros na membrana celular, gerando uma área de hemólise aumentada, quando as duas espécies são cultivadas em ágar sangue (TEIXEIRA *et al.*, 2015; ANVISA, 2013).

Historicamente, em 1887, *S. agalactiae* foi identificado como agente etiológico de mastite bovina por Nocard e Mollereau e na década de 1960 foi relatado como agente causador de sepsse neonatal, tornando-se, na década seguinte, a principal causa de morte e morbidade neonatal nos Estados Unidos, e posteriormente, a causa mais comum de sepsse e meningite neonatal em países desenvolvidos (LE DOARE e KAMPMANN, 2014).

Streptococcus agalactiae é considerado um importante agente etiológico de infecções humanas e sua capacidade patogênica é definida como complexa e multifatorial, pois envolve mecanismos de aderência às superfícies epiteliais, de invasão celular, de evasão do sistema imune e de ativação de resposta inflamatória (DORAN e NIZET, 2004). A partir desses mecanismos, EGB pode se disseminar pela corrente sanguínea, proliferar em tecidos distintos e induzir a produção de citocinas pro-inflamatórias, que são responsáveis pelo início do choque séptico (TEIXEIRA *et al.*, 2015; VORNHAGEN *et al.*, 2017).

A espécie é um típico exemplo de patobionte, membro da microbiota, que coloniza os tratores gastrointestinal e geniturinário de adultos e é agente de infecções, principalmente em idosos, pessoas com comorbidades, imunocomprometidos e em neonatos. Nestes últimos, a infecção tende a ser muito agressiva (MANOS, 2022; TEIXEIRA *et al.*, 2015).

EGB possui diversas estruturas, como proteínas de superfície que atuam mediando a interação do EGB com as células hospedeiras, e expressa moléculas, como a beta-hemolisina/citolisina (β -H/C), uma citotoxina que causa dano celular, que contribuem para o sucesso de seu processo infeccioso (VORNHAGEN *et al.*, 2017). Entretanto, a cápsula é apontada como o principal fator de virulência, pois é capaz de promover a evasão do sistema imune por conferir resistência à fagocitose. Também é considerada um importante marcador epidemiológico da espécie (DUTRA *et al.*, 2014).

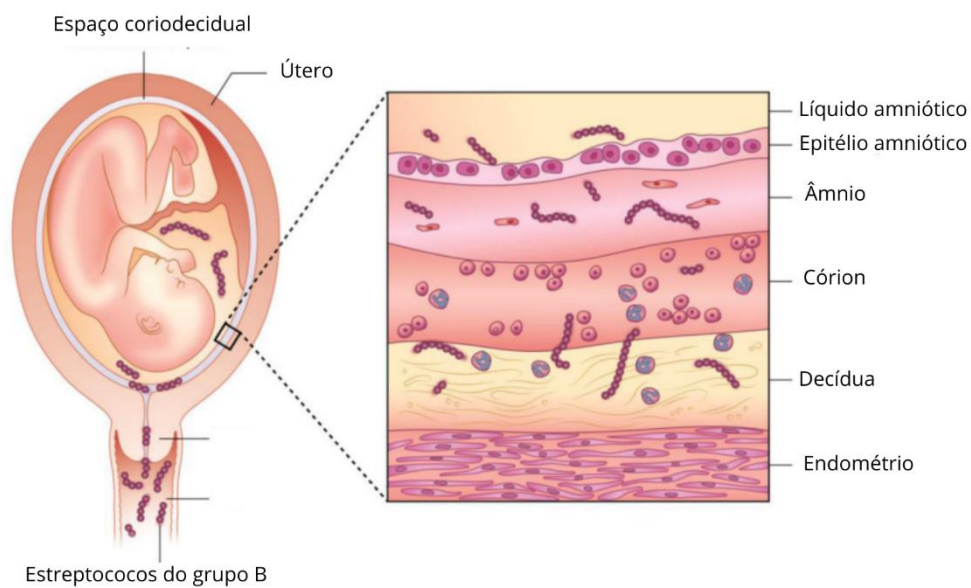
A cápsula polissacarídica de EGB é composta por unidades repetidas de 5 a 7 monossacarídeos com predomínio de ácido siálico, e a diversidade do arranjo destes componentes determina a especificidade de cada sorotipo (TONIOLO *et al.*, 2015). A cápsula pode ser classificada em 10 sorotipos distintos (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII e IX), devido à diversidade antigênica, baseada nas diferenças de sua composição e na sua reatividade ao sistema imunológico (KONEMAN, 2018).

1.3 Importância de EGB como um patógeno neonatal

A importância médica de EGB é notória na neonatologia. Apesar da colonização reto-vaginal pelo EGB ser assintomática na maioria das gestantes, pode provocar infecções urinárias, endometrite pós-parto e infecção uterina ascendente, com ruptura das membranas placentárias, levando ao parto prematuro e natimortos. Quando o microrganismo tem acesso à cavidade amniótica, o feto pode aspirar o líquido amniótico contaminado e a infecção pode se estabelecer ainda na vida intrauterina, como pode ser observado na Figura 1. A transmissão também pode ocorrer durante a passagem pelo canal do parto e cerca de 1-2% dos recém-natos de mães colonizadas desenvolvem a infecção (DORAN e NIZET, 2004; TEIXEIRA *et al.*, 2015).

Desde a década de 1970, o EGB é apontado como o principal patógeno associado aos casos de sepse, pneumonia e meningite neonatais. A doença estreptocócica neonatal pode ser classificada como precoce, quando há manifestações clínicas na primeira semana de vida, ou tardia, quando há manifestações após a primeira semana do nascimento e em até 90 dias.

Figura 1. Transmissão vertical em gestantes colonizadas por *S. agalactiae*

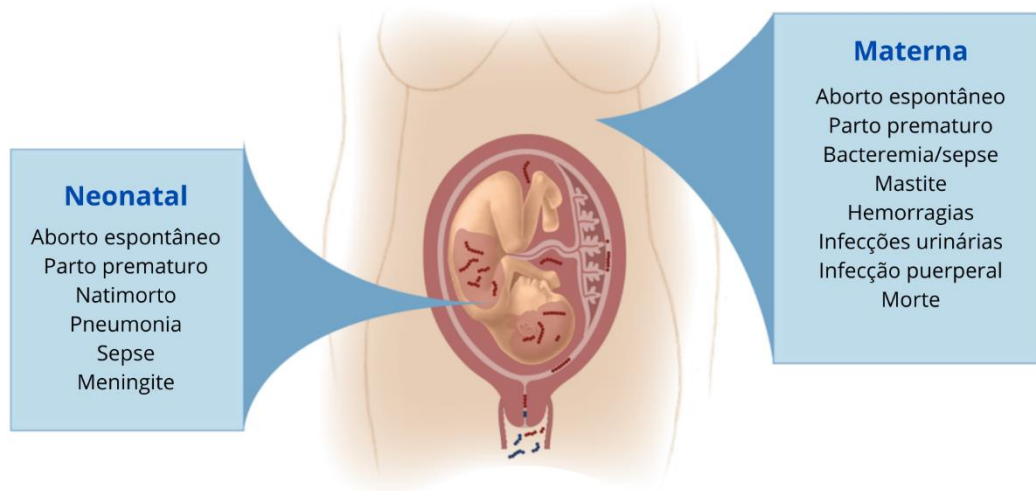


Fonte: Adaptado de Vornhagen; Adams Waldorf; Rajagopal, 2017

O principal fator de risco para a ocorrência da infecção precoce é a colonização assintomática pelo EGB do trato urogenital materno. A colonização materna pode ser transitória, crônica ou intermitente (BRASIL, 2022). A infecção precoce pode ser adquirida por via ascendente, através da ruptura das membranas placentárias ou durante a passagem do recém-nascido pelo canal de parto colonizado por EGB e possui maior gravidade em recém-natos prematuros. A aspiração do líquido amniótico contaminado ou da secreção vaginal pelo recém-nato permite o acesso da bactéria aos alvéolos pulmonares, onde a mesma poderá se proliferar e invadir as células, facilitando a sua disseminação via corrente sanguínea (TEIXEIRA *et al.*, 2015). Diante disso, as principais manifestações clínicas associadas à infecção neonatal precoce são: bacteremia, pneumonia, sepse e meningite (RAABE e SHANE, 2019).

A infecção tardia pode ser adquirida por meio da transmissão vertical, por via ascendente, também como consequência da ruptura prolongada das membranas, ou por meio da transmissão horizontal, adquirida por fonte exógena a partir do contato com a mãe e com os ambientes hospitalar e/ou comunitário (HEATH e SCHUCHAT, 2007). Dentre as manifestações clínicas associadas à infecção neonatal tardia destacam-se a bacteremia e a meningite, mas também podem ocorrer, infecção do trato urinário (ITU), infecções de tecidos moles e/ou ósseos. Apesar dessas infecções muitas vezes serem consideradas menos letais que as infecções precoces, podem provocar sequelas neurológicas crônicas e graves nos sobreviventes, como convulsões, déficit cognitivo, perda auditiva e cegueira (KONEMAN, 2018; SHABAYEK e SPELLERBERG, 2018). Na Figura 2 abaixo é possível observar as principais manifestações associadas às infecções neonatais e infecções em gestantes.

Figura 2. Principais manifestações associadas às infecções neonatais e infecções em gestantes causadas por EGB



Fonte: Adaptado de Brokaw *et al.*, 2021

1.4 Prevenção da infecção estreptocócica neonatal

Em 1996, houve uma recomendação conjunta do *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG), do CDC e da *American Academy of Pediatrics* (AAP), sobre a triagem universal de gestantes entre as 35^a e 37^a semanas de gestação e a antibioticoprofilaxia intraparto (API) em parturientes colonizadas por EGB ou que apresentem fatores de risco. Os fatores de risco que demandam tal medida são: trabalho de parto prematuro, ruptura de membranas abaixo de 37 semanas gestacionais, bacteriúria por EGB na gestação em curso ou anterior e histórico de recém-nascido anterior com sepse de início precoce por EGB (CDC, 2010; BRASIL, 2022).

Atualizações posteriores destas recomendações, enfatizam a eficácia dos protocolos baseados na pesquisa de colonização pelo EGB, com a coleta de secreção vaginal/retal, etapa de enriquecimento e cultura em ágar sangue, seguido da identificação da espécie e antibiograma (FILKINS *et al.*, 2020; ACOG, 2020).

O padrão-ouro para a triagem e o diagnóstico de EGB é a cultura de secreção vaginal-retal de gestantes, por meio da coleta de material realizada com um único *swab*, introduzido no introíto vaginal e no reto. Atualmente preconiza-se que este procedimento seja realizado entre o início da 36^a semana e o final da 37^a semana de gestação (ACOG, 2020).

Segundo orientações do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2010), atualizadas pela *American Society for Microbiology* (ASM) em 2020, é recomendado a etapa de enriquecimento com os meios TransVag [caldo Todd Hewitt (THB) suplementado com gentamicina (8 µg/mL) e ácido nalidíxico (15 µg/mL)], LIM [THB com colistina (10 µg/mL) e ácido nalidíxico (15 µg/mL)] ou meios de enriquecimento cromogênicos como o Caldo Carrot® ou Caldo Granada (FILKINS *et al.*, 2020).

Após a etapa de enriquecimento, a cultura deve ser realizada utilizando-se o ágar sangue ou os meios cromogênicos específicos para o crescimento de EGB, como o ágar ChromID StrepB®. Além disso, posteriormente, devem ser realizados testes confirmatórios para a identificação da espécie. Para a identificação presuntiva desta espécie é recomendado a realização dos testes de CAMP e de determinação do grupo sorológico (FILKINS *et al.*, 2020).

Outros testes fenotípicos também podem ser utilizados, como: a coloração de Gram, o teste da catalase e o teste da hidrólise do hipurato de sódio (TEIXEIRA *et al.*, 2015).

Abordagens envolvendo métodos moleculares fenotípicos e genotípicos também podem ser empregadas para a identificação de EGB. Técnicas como Maldi-Tof, *Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight*, que permite a identificação de espécies por espectrometria de massa a partir da ionização de proteínas, podem substituir os métodos tradicionais de identificação. Por outro lado, a utilização de PCR convencional ou de PCR quantitativo, esta última permitindo a amplificação de genes específicos e a detecção simultâneas, tem sido recomendada, desde que a etapa de enriquecimento do espécime seja realizada. Xpert® GBS, um teste rápido de diagnóstico baseado na tecnologia de PCR quantitativo e realizado a partir do material clínico, também tem sido utilizado (FILKINS *et al.*, 2020).

Após a identificação da espécie, deve ser realizado o antibiograma ou teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA). Segundo as recomendações da ASM, o TSA deve ser realizado em casos de pacientes alérgicas à penicilina, reportando apenas os resultados para a clindamicina e a vancomicina. É recomendada a realização do antibiograma para avaliar o comportamento da amostra frente à eritromicina e clindamicina, sendo o primeiro antimicrobiano utilizado como ferramenta de triagem para verificar resistência induzível à clindamicina (FILKINS *et al.*, 2020). A metodologia recomendada são os testes de disco-difusão ou de microdiluição em caldo de acordo com os critérios de realização e de interpretação estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards and Prevention* (CLSI, 2023).

A antibioticoprofilaxia intraparto é baseada na administração intravenosa da penicilina G benzatina ou da ampicilina no início do trabalho de parto, e é a principal medida de prevenção da infecção precoce neonatal (CDC, 1996). Para pacientes alérgicas à penicilina com baixo e alto risco de anafilaxia são recomendados, respectivamente, a cefazolina e a clindamicina ou vancomicina, conforme os resultados do TSA (ACOG, 2020).

Nos Estados Unidos, como resultado da triagem universal de gestantes e da API, a incidência de infecção estreptocócica neonatal foi reduzida de 1,8 casos por mil nascidos vivos, no início dos anos de 1990, para 0,23 casos por mil nascidos vivos a partir de 2015 (FILKINS *et al.*, 2020). Entretanto, ressalta-se que embora a incidência da infecção estreptocócica neonatal tenha sido reduzida com a adoção da API, esta estratégia é ineficiente para prevenir a

infecção de início tardio, os casos de natimortos associados ao EGB, de nascimentos prematuros e de infecções maternas, sendo necessário outras abordagens, como a vacinação materna (PAUL *et al.*, 2023).

No Brasil, atualmente, as recomendações sobre tal temática são conflitantes. Existem dois documentos elaborados pelo Ministério da Saúde que estabelecem orientações sobre o tema: o Caderno de Atenção Básica - Atenção ao Pré-natal de Baixo Risco (BRASIL, 2013) e o Manual Técnico de Gestação de Alto Risco (BRASIL, 2022).

O primeiro documento não recomenda a pesquisa de colonização por EGB na população de gestantes em geral e a adoção de uma conduta de profilaxia intraparto, sob a justificativa de que não há dados suficientes para tal. Já o segundo documento recomenda a pesquisa de EGB em gestantes em risco de trabalho de parto prematuro e a antibioticoprofilaxia das gestantes colonizadas e em casos de risco de sepse neonatal. Este, ainda preconiza que a pesquisa de EGB seja realizada em todas as gestantes, independente da presença de fatores de risco (BRASIL, 2013; BRASIL, 2022).

A infecção estreptocócica neonatal causada por EGB não possui notificação compulsória no Brasil e os dados disponíveis sobre colonização de gestantes e ocorrência de infecção neonatal são essencialmente oriundos de estudos regionais, com a maior concentração de informações sobre as regiões Sudeste e Sul, não refletindo a realidade nacional. Assim, o país segue sem realizar a prevenção e sem saber o real impacto das infecções estreptocócicas neonatais na população.

Considerando a relevância da infecção estreptocócica neonatal causada por EGB, o diagnóstico laboratorial rápido, sensível e específico é essencial para o manejo do tratamento e da prevenção. Diante disso, a determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos recomendados para a API e para o tratamento das infecções estreptocócicas é essencial, principalmente considerando-se os relatos de amostras resistentes à clindamicina, à vancomicina, ainda que rara, e suscetibilidade reduzida à penicilina (COSTA *et al.*, 2022; PARK *et al.*, 2014; KIMURA *et al.*, 2008).

1.5 Resistência aos antimicrobianos entre *S. agalactiae*

De maneira geral, *S. agalactiae* mantém-se suscetível aos antimicrobianos recomendados na terapia e na API. Entretanto, ao longo dos anos, tem-se observado redução de suscetibilidade e resistência a certas classes de antimicrobianos, o que lhe confere uma vantagem evolutiva e causa preocupação no meio médico (BARROS, 2021; COSTA *et al.*, 2022).

A origem genética da resistência em EGB é principalmente associada aos elementos genéticos móveis, como os elementos transponíveis ou transposons, que são frequentemente combinados com genes de resistência para outras classes de antimicrobianos, como tetraciclinas e aminoglicosídeos. Além disso, podem ser transferidos horizontalmente entre as células bacterianas e herdados verticalmente (Khan *et al.*, 2023).

A suscetibilidade reduzida à penicilina, droga de escolha para a API, foi descrita pela primeira vez em amostras isoladas no Japão (KIMURA *et al.*, 2008). Já a resistência às fluoroquinolonas, antimicrobianos que podem ser usados no tratamento de infecções por EGB, foi descrita primeiramente em 2003 no Japão (KAWAMURA *et al.*, 2003), e ainda é um evento raro em amostras isoladas no Brasil (BARROS, 2021). Resistência à vancomicina foi descrita em dois casos isolados nos Estados Unidos em 2014 (PARK *et al.*, 2014).

A resistência à clindamicina é reportada por estudos nacionais recentes com taxas variando entre 2% e 18,8% (BOTELHO *et al.*, 2018; BATTISTIN *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2020; BARROS, 2021; COSTA *et al.*, 2022) e por estudos internacionais variando entre 10% e 52,8% (GENOVESE *et al.*, 2020; BOB-MANUEL *et al.*, 2021; VAN DU *et al.*, 2021; BAE *et al.*, 2022; VERMA *et al.*, 2023; ZAKERIFAR *et al.*, 2023; DILRUKSHI *et al.*, 2023). Além disso, segundo dados disponibilizados pelo CDC e pelo Centro Nacional de Imunização e Doenças Respiratórias dos Estados Unidos, a taxa de resistência à clindamicina no país, no ano de 2021, foi de 49%, relativa às amostras isoladas de adultos e de recém-nascidos (CDC – ABCs BACT FACTS, 2022).

A resistência aos macrolídeos entre EGB também tem se mostrado relevante. Estudos mais recentes realizados no Brasil citam taxas de resistência à eritromicina entre 13,8% e 25% (BOTELHO *et al.*, 2018; BATTISTIN *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2020; BARROS, 2021;

COSTA *et al.*, 2022). Já estudos internacionais relatam altas taxas de resistência a este antimicrobiano entre 24,4% e 76,2% (GENOVESE *et al.*, 2020; VAN DU *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2021; BAE *et al.*, 2022; DILRUKSHI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2023).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a Doença do Coronavírus, do inglês *CoronaVirus Disease*, ou COVID-19, uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) entre 30 de janeiro de 2020 e 5 de maio de 2023 e neste período, houve um aumento do consumo de antibióticos devido à ocorrência de coinfeções bacterianas, principalmente a pneumonia (EVANS *et al.*, 2021).

No Brasil, ocorreu um consumo generalizado de azitromicina, antimicrobiano da classe dos macrolídeos, para o tratamento precoce da COVID-19, apesar das controvérsias de tal recomendação (BRASIL, 2020). Segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, houve um aumento nas vendas de azitromicina entre 2019 e 2020 de 41% (ANVISA, 2023). Além disso, o impacto da recente pandemia sobre as gestantes foi associado ao aumento das taxas de mortalidade neste grupo, de 7,4% em 2020 para 15,6% em 2021 (TAKEMOTO *et al.*, 2021).

Embora macrolídeos não sejam recomendados para a API, cabe destacar que EGB resistentes a estes antimicrobianos podem apresentar resistência constitutiva ou induzida à clindamicina, opção de API para pacientes alérgicas à penicilina. Esse fenótipo de resistência é denominado MLS_B (macrolídeos, lincosamida e estreptogramina do tipo B), e portanto, deve-se verificar o comportamento da amostra frente a estas duas classes de antimicrobianos durante o TSA e investigar os determinantes genéticos em amostras que apresentem tais fenótipos (CDC, 2010).

A resistência aos macrolídeos pode ser classificada em três fenótipos: M, no qual ocorre resistência apenas aos macrolídeos; MLS_{Bi}, resistência induzida à clindamicina; e MLS_{Bc}, resistência constitutiva a clindamicina. Tais fenótipos se manifestam a partir da expressão dos genes: *mefA*, *ermA* e *ermB*, respectivamente (SUTCLIFFE *et al.*, 1996). A resistência mediada pelo gene *mefA* ocorre devido à ação de bombas de efluxo presentes no envoltório celular, impedindo o acúmulo intracelular de macrolídeos de 14 e 15 carbonos. Já a resistência mediada pelos genes *ermA* e *ermB* ocorre por ação de metilases no sítio de atuação dos antimicrobianos, o ribossomo, na região 23S do rRNA, e confere resistência aos macrolídeos, lincosamídeos e estreptograminas (SUTCLIFFE *et al.*, 1996).

A resistência induzida à clindamicina (MLS_{Bi}) ocorre quando a expressão da metilase é estimulada por um macrolídeo e pode ser avaliada pelo teste de disco-aproximação ou “teste D”, utilizando-se discos de clindamicina (2 µg) e de eritromicina (15 µg), distantes 12 mm entre si de suas bordas (CLSI, 2023). Após a incubação, observa-se o achatamento do halo de clindamicina próximo ao disco de eritromicina. Já a resistência constitutiva (MLS_{Bc}), se dá em decorrência da expressão contínua da metilase e se caracteriza pela resistência plena à clindamicina e ao macrolídeo, conforme observado na Figura 3 abaixo. Diante da ocorrência do fenótipo MLS_{Bi}, a amostra deve ser considerada resistente à clindamicina, mesmo se o diâmetro do halo de inibição não corresponder à categoria resistente (CLSI, 2023).

Figura 3. Fenótipos de resistência aos macrolídeos em *S. agalactiae*



Legenda: MLS_{Bi}: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B indutivo; MLS_{Bc}: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B constitutivo

Fonte: Acervo pessoal

Considerando que o uso excessivo de antimicrobianos causa uma pressão seletiva que promove a disseminação de genes de resistência na população bacteriana (MCEWEN e COLLIGNON, 2018), a determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e o monitoramento de resistência, principalmente em relação aos beta-lactâmicos e aos macrolídeos, se faz imprescindível. Portanto, o diagnóstico laboratorial visando a caracterização de amostras de EGB e a avaliação de seu comportamento frente aos antimicrobianos é necessário para garantir a eficácia da API, impactando diretamente nas medidas de controle e tratamento de infecções por EGB, especialmente no que diz respeito à doença estreptocócica neonatal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo investigar a resistência aos antimicrobianos entre amostras de *Streptococcus agalactiae*, isoladas a partir de espécimes oriundos de gestantes durante a Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional de COVID-19. Para tal, os seguintes objetivos específicos são propostos:

2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o comportamento da população bacteriana frente aos antimicrobianos recomendados para a antibioticoprofilaxia intraparto (API) e para a terapia de infecções;
2. Investigar os fenótipos e os genótipos de resistência aos macrolídeos;
3. Comparar os critérios nacional (BrCAST) e internacional (CLSI) de interpretação dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras Bacterianas

As amostras presentes neste estudo foram isoladas na rotina dos laboratórios clínicos de microbiologia e são oriundas de espécimes obtidos de gestantes atendidas nos Serviços de Pré-Natal do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP, UFF) e do Instituto Fernandes Figueira (IFF, Fiocruz). Estas amostras foram armazenadas a -20°C no Laboratório de Estreptococos Beta-Hemolíticos, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF.

O projeto foi aprovado pelos comitês de ética em pesquisa da UFF e do IFF sob números CAAE 17369913.0.0000.5243 e CAAE 17564819.5.3001.5269, respectivamente. O critério de inclusão foi: amostras de *S. agalactiae* oriundas de secreção vaginal e de urina de gestantes, isoladas durante a Emergência de Saúde Pública Internacional pela COVID-19 (30/01/2020 até 05/05/2023) e amostras isoladas após este período e até setembro de 2023, que foram acrescentadas no estudo como um grupo externo. O critério de exclusão foi: amostras oriundas de outros hospedeiros que não fossem gestantes.

Foi adquirido um total de 116 amostras bacterianas referente ao período de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19. Dentre estas, 72 (62%) foram oriundas de secreção vaginal e 44 (38%) de urina de gestantes. Na Figura 4 a seguir é possível observar a distribuição de amostras adquiridas ao longo do tempo durante o período analisado.

Figura 4. Distribuição do quantitativo de amostras analisadas durante o período analisado de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19



3.2 Confirmação presuntiva da espécie

As amostras foram reativadas em ágar acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro (ágar sangue, AS) (Difco-BD, Sparks, MD, EUA). A partir do crescimento, avaliou-se as características morfológicas e a capacidade hemolítica das colônias. A identificação da espécie foi realizada por meio de testes fenotípicos tradicionais descritos a seguir.

Hidrólise do hipurato de sódio: colônias obtidas de cultura recente foram inoculadas no caldo Todd-Hewitt (THB), (“*Todd Hewitt Broth*”, Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) contendo hipurato de sódio a 1% e incubadas a 35°C por 24 h. A seguir, as amostras foram centrifugadas e a 0,8 mL do sobrenadante, foi adicionado 0,2 mL de solução de cloreto férrico a 12%. A formação de um precipitado por mais de 10 minutos indica a hidrólise do hipurato, sendo presuntivo de *S. agalactiae*. O princípio tem em vista a capacidade da espécie de hidrolisar o hipurato em glicina e ácido benzóico. A cepa de *S. agalactiae* ATCC 13813 foi utilizada como controle positivo (FACKLAM e WILKINSON, 1981).

Teste de CAMP: realizou-se a semeadura em estria central no ágar sangue da cepa de *S. aureus* (ATCC 25923) produtora de beta-lisina, e perpendicularmente a esta, semeou-se as amostras a serem confirmadas. Após incubação a 35°- 37°C num período entre 18 h a 24 h, observou-se uma área de sinergismo de hemólise, formando uma “ponta de flecha”, o que indica o teste como positivo, presuntivo de *S. agalactiae*. A cepa de *S. agalactiae* ATCC 13813 foi utilizada como controle positivo (ANVISA, 2013).

Amostras com resultados discrepantes foram submetidas ao teste comercial sorológico, de acordo com as recomendações do fabricante (Streptococcal Grouping Kit, Oxoid).

3.3 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA)

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de disco-difusão segundo as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023). Preparou-se uma suspensão bacteriana em solução salina fisiológica, cuja concentração foi equivalente à escala 0,5 de McFarland (cerca de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL). Utilizando um *swab* estéril, a suspensão foi semeada de modo confluyente na superfície do ágar Mueller Hinton (Difco-BD) suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro (MHS).

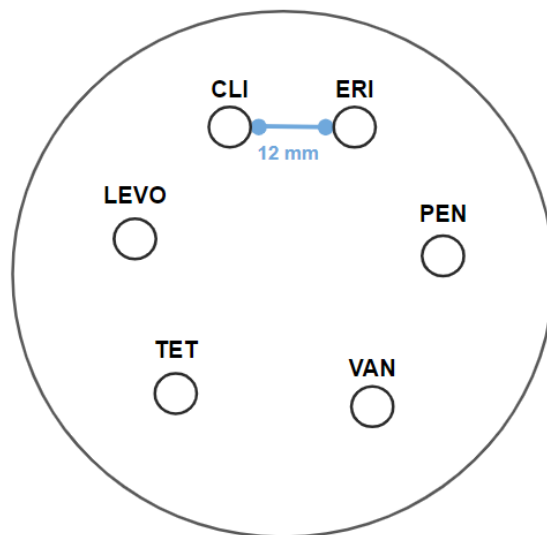
Foram depositados sobre a superfície do ágar discos dos seguintes antimicrobianos: clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), levofloxacina (5 µg), penicilina (10 UI), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg) (CECON, São Paulo, SP), conforme observado na Figura 4. As placas foram incubadas em ambiente com 5% de CO₂, por 18 a 24 horas, a 35°C.

Ressalta-se que de acordo com as orientações do BrCAST para a realização do método de disco-difusão, deve-se utilizar o ágar Mueller Hinton (MH) acrescido de 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L de β-NAD ou β-Dinucleótido de nicotinamida e adenina, também denominado de ágar de Mueller Hinton para microrganismos exigentes, do inglês *BD Mueller Hinton Fastidious Agar* (MH-F) (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA). Além disso, o período de incubação das placas recomendado é de 18 ± 2 h.

A leitura e a interpretação dos resultados foram realizadas de acordo com os critérios do CLSI (2023) e do BrCAST (2023) para fins comparativos, tendo em vista que os critérios internacionais são os mais tradicionalmente utilizados pelos laboratórios e que a implementação obrigatória, em 2018, em âmbito nacional, das recomendações do BrCAST nos laboratórios clínicos visou padronizar as normas dos testes de suscetibilidade, adaptando os conceitos do EUCAST (BRASIL, 2018). Na Tabela 1 é possível observar os pontos de corte do diâmetro dos halos de inibição segundo o CLSI e o BrCAST.

A investigação dos fenótipos de resistência aos macrolídeos foi realizada pelo método de disco-aproximação ou “teste D”, também de acordo com os critérios do CLSI, no qual dispõem-se os discos de eritromicina e clindamicina distantes 12 mm entre si no TSA, como retratado na Figura 5 (CLSI, 2023). O BrCAST também recomenda a realização do teste D, no entanto, a distância entre os discos, borda a borda, descrita é entre 12 a 16 mm, a fim de se observar a ocorrência do halo de inibição em forma de D para a clindamicina.

Figura 5. Disposição dos discos de antimicrobianos para o TSA



Fonte: Próprio autor

Tabela 1. Antimicrobianos utilizados no TSA, sua concentração e pontos de corte do diâmetro dos halos de inibição segundo o CLSI e o BrCAST em 2023

Antimicrobianos	Concentração	Pontos de Corte para Diâmetro de Halo (mm)					
		CLSI			BrCAST		
		S	I	R	S	I*	R
Clindamicina	2 µg	≥19	18-16	≤15	≥17	-	<17
Eritromicina	15 µg	≥21	20-16	≤15	≥21	-	<21
Levofloxacina	5 µg	≥17	16-14	≤13	≥50	17-49	<17
Penicilina	10 UI	≥24	-	-	≥18	-	<18
Tetraciclina	30 µg	≥23	22-19	≤18	≥23	-	<23
Vancomicina	30 µg	≥17	-	-	≥13	-	<13

Legenda: S: Sensível, dose padrão; I: Intermediário; I*: Sensível, aumentando a exposição; R: Resistente.

Fonte: Adaptado de CLSI, 2023; BrCAST, 2023

3.4 Investigação da Concentração Mínima Inibitória (CMI):

Foi avaliada a concentração mínima inibitória (CMI) para a penicilina, pelo método epsilométrico, conforme as recomendações do fabricante (E-test®, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). A partir de uma cultura recente, uma suspensão bacteriana foi preparada com turvação equivalente à escala 0,5 de McFarland e semeada em ágar MHS (Difco-BD). Posteriormente, foi depositada na superfície do ágar uma fita impregnada com penicilina para avaliação. As placas foram incubadas nas mesmas condições empregadas no TSA. A leitura foi realizada a partir da observação da menor concentração do antimicrobiano que inibiu o crescimento bacteriano. A interpretação do teste foi realizada segundo recomendações do CLSI (CLSI, 2023).

Realizou-se também a determinação da CMI para a eritromicina, em duas amostras que apresentaram diâmetros de halos muito próximos da definição das categoriais “susceptível” e “intermediária” do CLSI, e para a levofloxacina, em quatro amostras resistentes a este

antimicrobiano. As amostras foram submetidas ao teste epsilométrico (M.I.C, Evaluators, Oxoid) por meio de tiras plásticas contendo o gradiente de concentração dos antimicrobianos eritromicina (0,015-256µg/ml) e levofloxacina (0,002-32µg/ml). Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios do CLSI (CLSI, 2023).

3.5 Investigação dos determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos

As amostras não-suscetíveis à eritromicina foram submetidas a PCR para a investigação dos genes: *ermA*, *ermB* e *mefA*. A extração do DNA bacteriano foi feita por lise térmica e enzimática segundo protocolo previamente descrito com modificações (BEALL *et al.*, 1996). A partir do crescimento em ágar sangue, preparou-se uma suspensão equivalente à escala 3 de McFarland, em 300 µL de solução fisiológica estéril. As suspensões foram centrifugadas posteriormente a 5000 rpm por 5 min e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, o sedimento foi ressuspensão em 200 µL de tampão Tris-EDTA estéril e 2,5 µL de solução de mutanolisina (2000 U/mL) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA). As amostras foram incubadas a 35°C por 30 minutos e em seguida a 100°C por 5 min. Após centrifugadas a 3000 rpm por 30 segundos, as amostras foram imediatamente congeladas ou utilizadas na mistura da reação.

A reação de amplificação seguiu protocolos prévios (SUTCLIFFE *et al.*, 1996; PÉREZ-TRALLERO *et al.*, 2007). Os reagentes (Thermo Scientific Waltham, MA, EUA) foram utilizados nas concentrações descritas na Tabela 2 e a sequência dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados são descritos na Tabela 3. As condições da reação de amplificação foram: desnaturação inicial de 3 min a 94°C, 35 ciclos (94°C, 53°C, 72°C por 1min cada) e extensão final de 5 min a 72°C. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,2% a 100V e 40mA e os fragmentos foram visualizados após coloração com solução de brometo de etídio, sob luz UV.

Tabela 2. Concentração dos reagentes utilizados na reação de amplificação

Reagente	Concentração na Reação	Volume de 1 Reação
MgCl ₂	2 mM	2,4
Tampão	1 x	3
Iniciadores	1 mM	3 (x2)
dNTPs	0,2 mM	3
Taq polimerase	1 U	0,2
H ₂ O	-	12,4
DNA	-	3 µL

Legenda: MgCl₂: Cloreto de magnésio; dNTPs: Desoxirribonucleotídeos Fosfatados; Taq polimerase: enzima termoestável utilizada na amplificação de fragmentos de DNA através da técnica de PCR; H₂O: água; DNA: ácido desoxirribonucleico

Tabela 3. Sequência de primers utilizados na PCR

Genes Macro R	Oligonucleotídeo iniciador (5' - 3')	Produto (pb)
<i>ermB</i> forward ¹ <i>ermB</i> reverse ¹	GAAAAGGTACTCAACCAAATA CATTGTAAATTCATGGCAATGA	639
<i>ermA</i> forward ² <i>ermA</i> reverse ²	AACTTGTGGAAATGAGTCAACGG CAGAATCTACATTAGGCTTAGGG	375
<i>mefA</i> forward ² <i>mefA</i> reverse ²	AGTATCATTAAATCACTAGTGC TTCTTCTGGTACTAAAAGTGG	345

Legenda: ¹Sutcliffe *et al.*, 1996; ²Pérez-Trallero *et al.*, 2007.

4. RESULTADOS

Todas as amostras revelaram resultados positivos em ambos os testes empregados para a identificação bacteriana, o teste de hidrólise do hipurato de sódio e o teste de CAMP, sendo possível identificá-las presuntivamente como *S. agalactiae*.

O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das amostras foi investigado pelo método de disco-difusão, de acordo com os critérios de realização estabelecidos pelo CLSI (CLSI, 2023). A leitura e a interpretação dos resultados do TSA foram realizadas de acordo com as orientações do CLSI e do BrCAST para fins comparativos, conforme citado anteriormente.

Considerando as 116 amostras analisadas por este estudo referente ao período de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19 e os critérios do CLSI, todas as amostras foram sensíveis à penicilina e vancomicina. Para a penicilina, foi avaliada a CMI, pelo método epsilométrico em 71 (61,2%) amostras e não foi detectada redução de suscetibilidade.

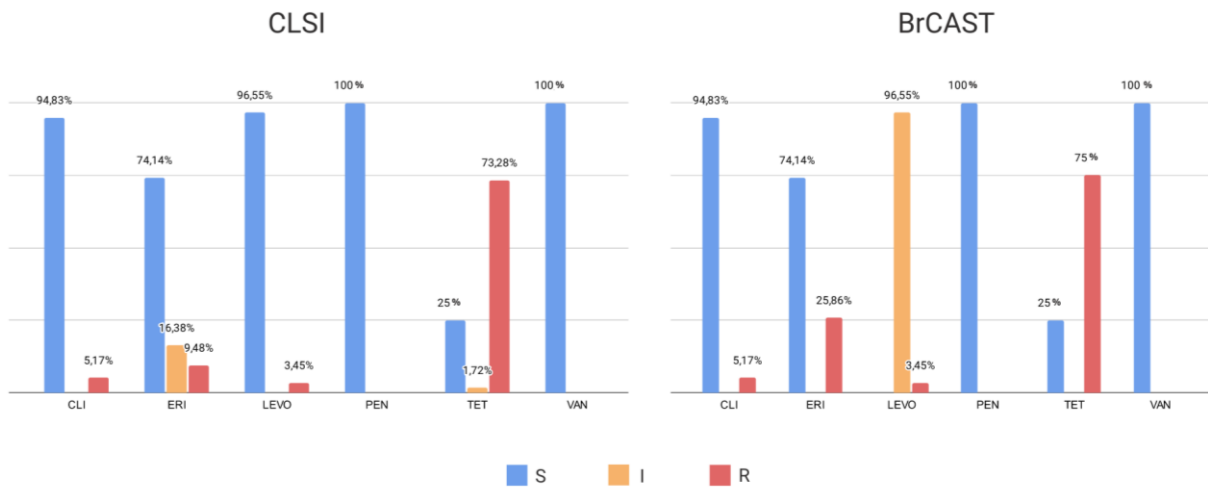
Quatro (3,4%) amostras apresentaram resistência à levofloxacina, não apresentando halo de inibição no TSA. A CMI destas amostras foi maior que 32 µg/mL. Foi encontrada resistência à tetraciclina em 85 (73,2%) amostras e duas (1,7%) amostras se revelaram como intermediárias para este antimicrobiano. Resistência à clindamicina foi encontrada em seis (5,1%) amostras. Um total de 30 (25,8%) amostras se apresentou como não-suscetível à eritromicina e dentre estas, 11 (36,7%) foram consideradas resistentes e 19 (63,3%) intermediárias.

Já segundo os critérios nacionais do BrCAST, todas as amostras também foram consideradas sensíveis à penicilina e vancomicina. Entretanto, 112 (96,5%) amostras foram classificadas como intermediárias para a levofloxacina e a resistência a este antimicrobiano foi encontrada nas mesmas quatro amostras, assim como a resistência à clindamicina, que foi encontrada nas mesmas seis amostras observada na análise com os parâmetros estabelecidos para *S. agalactiae* do CLSI 2023.

Ainda segundo o BrCAST, 87 (75%) amostras foram resistentes à tetraciclina. Já a resistência à eritromicina foi encontrada em 30 (25,8%) amostras, não havendo diferenciação na tabela com os pontos de corte entre amostras intermediárias e resistentes. O comparativo das

interpretações dos perfis de suscetibilidade a dose padrão aos antimicrobianos testados frente às duas classificações está ilustrado na Figura 6 abaixo.

Figura 6. Interpretação do comportamento frente aos antimicrobianos de acordo com os critérios do CLSI e BrCAST



Legenda: CLI: Clindamicina; ERI: Eritromicina; LEVO: Levofloxacina; PEN: Penicilina; TET: Tetraciclina; VAN: Vancomicina; S: Sensível, dose padrão; I: Intermediário (CLSI) ou Sensível, aumentando a exposição (BrCAST); R: Resistente

Detectou-se a presença de seis (5,1%) amostras multirresistentes (MDR), que ocorre quando as bactérias são resistentes a três ou mais classes de antimicrobianos (OTEO *et al.*, 2017). Resistência concomitante à clindamicina, eritromicina e tetraciclina foi observada em três amostras, uma amostra foi resistente à clindamicina, eritromicina e levofloxacina e duas amostras foram resistentes à clindamicina, eritromicina, levofloxacina e tetraciclina. A Tabela 4 a seguir traz o perfil de suscetibilidade dessas amostras frente as classificações do CLSI e do BrCAST.

Tabela 4. Perfil de suscetibilidade das amostras multirresistentes (MDR) encontradas

Amostra	CLSI/ BrCAST					
	CLI	ERI	LEVO	PEN	TET	VAN
1049	R/R	R/R	S/I*	S/S	R/R	S/S
1059	R/R	R/R	R/R	S/S	S/S	S/S
1111	R/R	R/R	S/I*	S/S	R/R	S/S
1114	R/R	R/R	R/R	S/S	R/R	S/S
1134	R/R	R/R	R/R	S/S	R/R	S/S
1154	R/R	R/R	S/I*	S/S	R/R	S/S

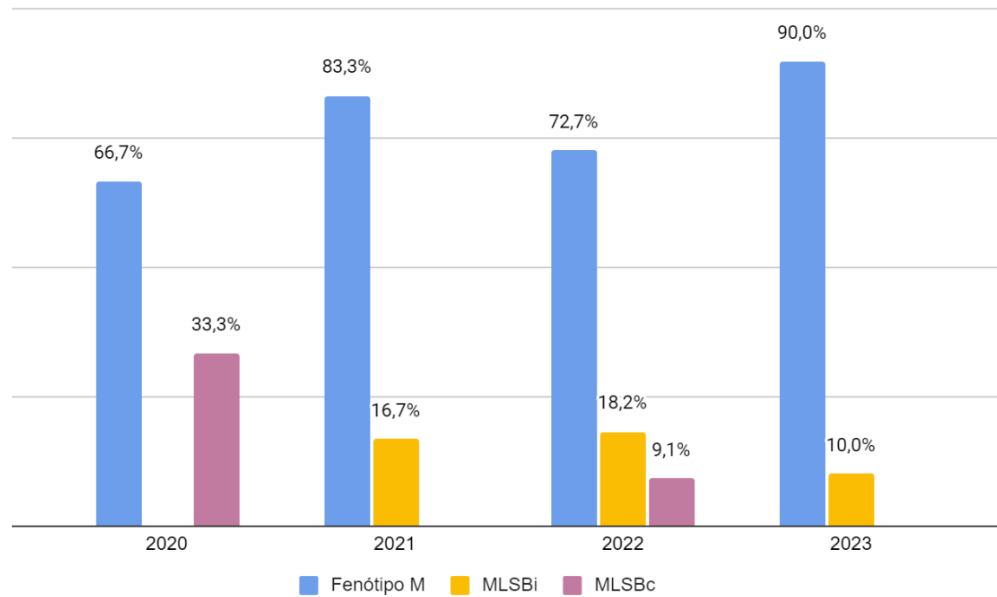
Legenda: S: Sensível, dose padrão; I: Intermediário; I*: Sensível, aumentando a exposição; R: Resistente

Os fenótipos de resistência aos macrolídeos foram avaliados a partir do teste de disco-aproximação durante o TSA, de acordo com os critérios do CLSI, e encontrou-se a seguinte distribuição: 24 (82,7%) amostras apresentaram o fenótipo M, 4 (13,7%) o fenótipo MLS_{Bi} e 2 (6,8%) o fenótipo MLS_{Bc}. Na Figura 7 é possível observar a distribuição dos fenótipos encontrados ao longo do tempo entre as amostras.

A investigação dos genes de resistência aos macrolídeos, a fim de se confirmar a expressão do fenótipo, ocorreu em 30 amostras, das quais 29 foram não-suscetíveis à eritromicina e uma foi suscetível, apresentando halo de inibição de 21 mm, muito próximo ao limite da categoria “susceptível”. Devido a essa proximidade, a amostra foi submetida a determinação da CMI e foi caracterizada como resistente à eritromicina (CMI = 8 µg/mL).

Observou-se que 23 amostras com o fenótipo M apresentaram o produto de amplificação compatível com o gene *mefA*, enquanto que o gene *ermA* foi detectado em quatro amostras com fenótipo MLS_{Bi} e o gene *ermB* foi encontrado em duas amostras com o fenótipo MLS_{Bc}. Destaca-se a presença simultânea dos determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos, os genes *ermA* e *mefA*, em uma das amostras com fenótipo MLS_{Bi}. Em uma amostra não foi obtido amplificação de nenhum dos genes investigados. A distribuição dos fenótipos e genótipos de resistência aos macrolídeos é demonstrada na Tabela 5.

Figura 7. Distribuição dos fenótipos de resistência aos macrolídeos encontrados entre as amostras analisadas ao longo do período de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19.



Legenda: MLSBi: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B indutivo; MLSBc: Fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B constitutivo

Tabela 5. Distribuição dos fenótipos e genótipos de resistência aos macrolídeos entre as amostras de EGB

Fenótipos (Total de amostras)	Genótipos		
	<i>mefA</i>	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>
M (24)	23	-	-
MLSBi (4)	1	4	-
MLSBc (2)	-	-	2

Avaliou-se também o perfil de suscetibilidade de um grupo de amostras isoladas após o período de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19 e até setembro de 2023, que totalizou em 28 amostras. Considerando os critérios do CLSI, todas as amostras se revelaram sensíveis à penicilina, vancomicina, levofloxacina e clindamicina. Resistência à tetraciclina foi encontrada em 24 (85,7%) amostras e uma (3,5%) se mostrou como

intermediária para este antimicrobiano. Não-suscetibilidade à eritromicina foi encontrada em cinco (17,8%) amostras, das quais uma (20%) foi resistente e quatro (80%) intermediárias.

A partir da avaliação pelos critérios do BrCAST, todas estas amostras também foram sensíveis à penicilina, vancomicina e clindamicina. Todavia, todas foram consideradas intermediárias para levofloxacina. Resistência à tetraciclina foi encontrada em 25 (89,2%) amostras e resistência à eritromicina foi detectada em cinco (17,8%) amostras. Em relação aos fenótipos e aos determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos, encontrou-se o fenótipo M, nas cinco (17,8%) amostras, que apresentaram o produto de amplificação compatível com o gene *mefA*.

5. DISCUSSÃO

O EGB é um importante patógeno de infecções humanas, sendo muito relevante na neonatologia por causar a doença estreptocócica neonatal. Apesar da espécie geralmente manter-se suscetível aos antimicrobianos recomendados na terapia de infecções e na API, tem-se observado redução de suscetibilidade ou resistência a certas classes de antimicrobianos. O aumento das taxas de resistência às terapias recomendadas para pacientes alérgicas aos beta-lactâmicos é frequentemente relatado, sendo, portanto, essencial caracterizar as amostras isoladas de gestantes e monitorar seus comportamentos frente aos antimicrobianos (BARROS, 2021; COSTA *et al.*, 2022).

As amostras provenientes de secreção vaginal e de urina de gestantes avaliadas por este estudo foram isoladas pelos Serviços públicos de Pré-Natal do HUAP e do IFF que adotam a triagem de gestantes para o rastreamento de EGB, uma vez que prestam assistência a gestantes com comorbidades e/ou risco de parto prematuro. Estas gestações são consideradas de alto risco, e por isso, segundo o Manual Técnico de Gestação de Alto Risco (BRASIL, 2022), a conduta recomendada é o rastreamento de EGB e a API das gestantes colonizadas. Ainda segundo este documento, é aconselhada a pesquisa de EGB em todas as gestantes, independente da presença de fatores de risco, como citado anteriormente, e apesar disso, tal procedimento não é adotado pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Vale ressaltar que a análise de amostras provenientes de urina também é relevante em gestantes uma vez que *S. agalactiae* pode causar infecção urinária, o que requer tratamento com antimicrobianos em qualquer fase da gestação e também, porque a bacteriúria, mesmo que assintomática, é associada à intensa colonização vaginal, o que torna a gestante elegível para a API (MULLER *et al.*, 2006; NOMURA *et al.*, 2009).

Este estudo investigou o comportamento de *S. agalactiae* frente aos antimicrobianos recomendados para a API e o tratamento das infecções estreptocócicas. Todas as amostras analisadas foram uniformemente sensíveis à penicilina e vancomicina, de acordo com os critérios de interpretação do CLSI e do BrCAST. Estas drogas são usualmente utilizadas na API e o resultado encontrado está em concordância com a maioria dos achados citados pela literatura em distintas localidades (KHAN *et al.*, 2015; LÓPEZ *et al.*, 2018; BOTELHO *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2022; DILRUKSHI *et al.*, 2023).

Embora não encontrada por este estudo, a suscetibilidade reduzida à penicilina foi descrita pela primeira vez em amostras isoladas entre 1995 e 2005 no Japão (KIMURA *et al.*, 2008). Outro estudo também realizado no Japão, relatou uma prevalência de suscetibilidade reduzida à penicilina de 14,7% entre amostras isoladas entre 2012 e 2013 (SEKI *et al.*, 2015). É fundamental ressaltar que para se detectar suscetibilidade reduzida à penicilina deve-se avaliar a concentração mínima inibitória (CMI), que pode ser realizada pelo método epsilométrico ou pelos métodos de diluição (KIMURA *et al.*, 2009). No Brasil, também já foi relatada resistência a este antimicrobiano, porém sem a avaliação da CMI e sem a detecção de determinantes genéticos da resistência (MORGUETTE *et al.*, 2018).

A resistência à vancomicina entre EGB também já foi relatada em dois casos epidemiologicamente não-relacionados em diferentes regiões dos Estados Unidos (PARK *et al.*, 2014). Um outro estudo mais recente, realizado em 2023 no Irã, registrou uma taxa de resistência à vancomicina de 7,5% entre as 106 amostras de EGB provenientes de gestantes avaliadas durante o TSA utilizando os critérios do CLSI, porém não aborda dados sobre a detecção dos determinantes genéticos de resistência (ZAKERIFAR *et al.*, 2023).

A resistência à tetraciclina foi identificada em 73,2% das amostras referentes ao período de Emergência de Saúde Pública Internacional pela COVID-19, de acordo com a interpretação do CLSI e em 75% das amostras segundo o BrCAST. Tal diferença nas taxas se dá pela não diferenciação, nos pontos de corte do BrCAST, entre as amostras intermediárias e

resistentes à tetraciclina. Entretanto, as taxas de resistência encontradas são similares às reportadas por outros estudos nacionais e internacionais, que utilizaram o CLSI como critério de interpretação (BOTELHO *et al.*, 2018; DO NASCIMENTO *et al.*, 2019; BARROS, 2021; COSTA *et al.*, 2022; PALACIOS-SAUCEDO *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2023; ZAKERIFAR *et al.*, 2023).

Apesar da tetraciclina não ser recomendada para prevenir ou tratar infecções causadas por estreptococos beta-hemolíticos, possui amplo uso na veterinária, onde *S. agalactiae* apresenta um importante papel como patógeno associado à mastite bovina. Durante a década de 1970, a tetraciclina foi muito utilizada na medicina humana por conta das vantagens de suas propriedades farmacológicas, como amplo espectro de ação, baixa toxicidade e menor custo, o que contribuiu para o aumento de suas taxas de resistência, reduzindo a sua eficácia (PEREIRA-MAIA *et al.*, 2010; MELO *et al.*, 2016). Dessa forma, para fins epidemiológicos, é relevante avaliar a resistência a este antimicrobiano ao longo do tempo.

A resistência à levofloxacina, antimicrobiano da classe das fluoroquinolonas, foi encontrada em 3,4% das amostras segundo os critérios do CLSI e do BrCAST, o que é bastante relevante tendo em vista que ainda é um evento raro em amostras isoladas de EGB no país (BARROS, 2021). Existem três estudos nacionais que citam taxas de resistência às fluoroquinolonas entre EGB de 1% a 7,1% (NAKAMURA *et al.*, 2011; BOTELHO *et al.*, 2018; BATTISTIN *et al.*, 2018). A taxa de resistência encontrada neste estudo está em coerência com a variação citada entre as taxas reportadas por outros estudos brasileiros.

Estudos mais recentes realizados entre os anos de 2019 e 2023, em distintos países, citam taxas de resistência a fluoroquinolonas entre 4,6% e 78,3% (ARIAS *et al.*, 2019; GENOVESE *et al.*, 2020; BOB-MANUEL *et al.*, 2021; LEE *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2023; VERMA *et al.*, 2023; ZAKERIFAR *et al.*, 2023). Cabe destacar que a resistência a estes antimicrobianos foi descrita pela primeira vez em 2003 no Japão (KAWAMURA *et al.*, 2003) e que no Brasil, em 2012, foi realizada a caracterização genética das primeiras cepas de *S. agalactiae* resistentes às fluoroquinolonas isoladas no país (BARROS *et al.*, 2012).

O principal mecanismo de resistência às fluoroquinolonas é relacionado às mutações pontuais nos genes cromossômicos, *gyrA* e *parC*, que causam substituições de aminoácidos, reduzindo a afinidade do antimicrobiano com seu sítio de ligação (KAWAMURA *et al.*, 2003).

Outro mecanismo também relacionado, mas ainda não encontrado na espécie e detectado em *S. pneumoniae*, é a expressão de bombas de efluxo (JUMBE *et al.*, 2006).

A resistência à clindamicina foi encontrada neste estudo em 5,1% das amostras. Taxas variáveis de resistência à clindamicina entre EGB têm sido encontradas em diferentes regiões geográficas ao longo do tempo, como citado anteriormente. A taxa de resistência encontrada neste estudo está em coerência com a variação das taxas relatadas por outros estudos nacionais entre 2% e 18,8% (BOTELHO *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2020; BARROS, 2021; COSTA *et al.*, 2022).

Em relação a este antimicrobiano, também foram encontradas diferenças entre os pontos de corte do diâmetro dos halos de inibição, diante das interpretações do CLSI e do BrCAST. Enquanto os primeiros critérios diferenciam amostras suscetíveis, intermediárias e resistentes, os segundos apenas diferenciam amostras suscetíveis e resistentes, com variações numéricas entre os diâmetros dos halos em ambas as interpretações. Utilizando-se apenas os critérios do BrCAST de interpretação dos resultados do TSA se torna dificultoso caracterizar as amostras não-suscetíveis de forma mais específica, o que pode impactar na conduta de adoção da API.

A não-suscetibilidade à eritromicina foi detectada em 25,8% das amostras, sendo 36,7% destas resistentes e 63,3% intermediárias, de acordo com os critérios do CLSI e resistência a este antimicrobiano foi encontrada em 25,8% das amostras, de acordo com os critérios do BrCAST. As taxas de resistência à eritromicina encontradas foram maiores do que as citadas por alguns estudos brasileiros anteriores que utilizaram como critérios de interpretação dos resultados o CLSI (BORGER *et al.*, 2005; DUTRA *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2016; BOTELHO *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2022). Comparada às taxas de resistência reportadas por estudos recentes realizados no Canadá, Estados Unidos, Itália, Coreia do Sul e China, que citam taxas entre 36,8% e 65,4%, as taxas encontradas foram menores (GENOVESE *et al.*, 2020; MA *et al.*, 2021; MCGEE *et al.*, 2021; BAE *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2023).

Destaca-se que nos de pontos de corte do BrCAST não há uma diferenciação para amostras intermediárias e resistentes à eritromicina, o que reduz a sensibilidade e a especificidade dos resultados. Além disso, o BrCAST não diferencia os três fenótipos de resistência aos macrolídeos, mas menciona sobre a inibição da clindamicina na presença do macrolídeo e sobre a realização do teste D. (BrCAST, 2023; CLSI, 2023).

Em relação aos fenótipos de resistência aos macrolídeos, 82,7% das amostras apresentaram o fenótipo M, 13,7% o fenótipo MLS_{Bi} e 6,8% o fenótipo MLS_{BC}. A investigação dos genótipos de resistência aos macrolídeos por abordagem molecular possibilitou a confirmação da expressão dos fenótipos descritos e foi observado a prevalência do fenótipo M associado ao gene *mefA*. Este resultado é diferente dos encontrados por outros estudos nacionais, que observaram a prevalência dos fenótipos MLS_B e dos genótipos *erm* (PALMEIRO *et al.*, 2010; OTAGUIRI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013; BARROS *et al.*, 2016; SANTANA *et al.*, 2020; BARROS, 2021). No entanto, o resultado se assemelha ao estudo realizado por Botelho e colaboradores (2018), também no Rio de Janeiro, no qual encontrou-se o fenótipo M numa maior frequência. Estudos realizados em outras regiões geográficas, como Etiópia, Colômbia, Itália e Irã, também citam uma prevalência dos fenótipos indutivo e constitutivo (GIZACHEW *et al.*, 2019; CAMPO *et al.*, 2019; GENOVESE *et al.*, 2020; ZAKERIFAR *et al.*, 2023).

No ano de 2019, o EGB foi incluído na lista do CDC de ameaças atuais de resistência aos antimicrobianos devido a um aumento na detecção de cepas resistentes à eritromicina e à clindamicina (CDC, 2019). No Brasil, ocorreu um aumento do consumo de azitromicina, antimicrobiano da classe dos macrolídeos, como parte do tratamento precoce para a COVID-19 (BRASIL, 2020). O consumo exacerbado de antibióticos pode causar uma pressão seletiva e favorecer a disseminação de genes de resistência na população bacteriana circulante (MCEWEN E COLLIGNON, 2018). Tendo em vista tais fatos, os resultados encontrados por este estudo em relação a resistência à eritromicina e que a resistência aos macrolídeos é associada à resistência à clindamicina, faz-se necessário verificar de forma contínua a resistência às duas classes de antimicrobianos.

Foi detectada neste estudo a presença de amostras multirresistentes, assim como em estudos realizados em outros países, como Etiópia, Indonésia e Bulgária (ASSEFA *et al.*, 2018; SAFARI *et al.*, 2021; GERGOVA *et al.*, 2021). Apesar disso não constituir uma situação emergencial, uma vez que a espécie, de maneira geral, continua suscetível aos beta-lactâmicos, a suscetibilidade reduzida a esta classe de antimicrobianos associada à resistência as outras opções utilizadas na API, como a clindamicina e a vancomicina, ou às opções de tratamento das infecções estreptocócicas, como as fluoroquinolonas, pode prejudicar a eficácia da API e limitar a seleção de fármacos para o tratamento das infecções.

Em relação ao grupo de amostras analisadas referentes ao período posterior de Emergência de Saúde Pública Internacional de COVID-19 e até setembro de 2023, não foi observada resistência à clindamicina e à levofloxacina. Porém, variações também foram encontradas quanto aos resultados do TSA, segundo as interpretações do CLSI e do BrCAST para a tetraciclina e levofloxacina, devido às diferenças entre os pontos de corte para amostras suscetíveis e intermediárias entre ambas as interpretações.

Observou-se também entre as amostras isoladas no período posterior de ESPII de COVID-19 e até setembro de 2023 a mesma tendência de resistência à eritromicina com suscetibilidade à clindamicina, devido ao fenótipo M. As taxas de resistência à eritromicina detectadas neste grupo de amostras, de 20% e de 17,8%, segundo o CLSI e o BrCAST, respectivamente, também podem ser consideradas altas quando comparadas às taxas relatadas por estudos nacionais anteriores (BORGER *et al.*, 2005; DUTRA *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2016; BOTELHO *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2022). No que diz respeito aos fenótipos e aos determinantes genéticos de resistência aos macrolídeos, o fenótipo M foi prevalente e as amostras com tal fenótipo apresentaram o produto de amplificação compatível com o gene *mefA*, o que é similar aos resultados encontrados no grupo de amostras relativas ao período de ESPII de COVID-19.

No Brasil, a infecção estreptocócica neonatal não possui notificação compulsória e não foram realizados, até o momento, significativos estudos epidemiológicos nacionais sistematizados. O Ministério da Saúde, por meio de dois documentos: o Caderno de Atenção Básica - Atenção ao Pré-natal de Baixo Risco (2013) e o Manual Técnico de Gestação de Alto Risco (2022), estabelece orientações sobre o tema, como citado anteriormente, porém estas são conflitantes e não são adotadas de forma universal pelos prestadores de assistência ao pré-natal públicos e privados.

Desta forma, podemos concluir que atualmente não há muita informação acerca dos dados epidemiológicos sobre a infecção estreptocócica neonatal em âmbito nacional, tanto no que diz respeito à prevalência quanto à efetividade das formas de prevenção, apesar das fortes evidências internacionais desta última.

É indiscutível a relevância de EGB como agente de infecção neonatal e do sofrimento causado não só pelo óbito neonatal, mas pelas sequelas nos sobreviventes, o que impacta de forma permanente estes indivíduos e suas famílias. Além disso, diversos estudos apontam

aumento da detecção de amostras resistentes aos antimicrobianos recomendados na API, principalmente aqueles utilizados nos casos de alergia à penicilina (ASSEFA *et al.*, 2018; GENOVESE *et al.*, 2020; MCGEE *et al.*, 2021; DILRUKSHI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2023; VERMA *et al.*, 2023). Tal cenário evidencia a importância de incluir, durante o pré-natal, realizado no país, a triagem da colonização por EGB com avaliação do comportamento das amostras frente aos antimicrobianos durante as análises realizadas em laboratórios de microbiologia para garantir o tratamento adequado e a eficácia da API.

Além disso, se fazem necessárias contínuas atualizações dos documentos elaborados pelo Ministério da Saúde que orientam sobre o tema, tendo em vista que há discrepâncias entre as orientações para gestantes de baixo e de alto risco, conforme citado previamente. Somado a esta medida, é essencial a formulação de políticas públicas de prevenção e de um sistema de notificação, a fim de se conhecer a epidemiologia nacional e erradicar a infecção estreptocócica neonatal no país.

6. CONCLUSÃO

- Todas as amostras foram positivas nos testes de hidrólise do hipurato de sódio e de CAMP, evidenciando a aplicabilidade destes na identificação presuntiva de *S. agalactiae*.
- Todas as amostras submetidas ao TSA pelo método de disco-difusão foram sensíveis à penicilina e à vancomicina.
- A resistência à tetraciclina foi observada na maioria das amostras segundo os critérios do CLSI e do BrCAST.
- Foi detectada resistência à levofloxacina entre as amostras, evento ainda raro no Brasil.
- Comparado a outros dados nacionais, elevadas taxas de não-suscetibilidade ou resistência à eritromicina foram encontradas com prevalência do fenótipo M associado ao gene *mefA*.
- Os dois critérios de interpretação do TSA apresentaram como principais discrepâncias: a ausência de diferenciação entre amostras intermediárias e resistentes para a tetraciclina, clindamicina e eritromicina pelo BrCAST e a diferença entre os pontos de corte do diâmetro dos halos, de 16-14 mm e 17-49 mm, entre o CLSI e o BrCAST, respectivamente, para amostras intermediárias à levofloxacina.
- Foi observada multirresistência em 5,1% das amostras, envolvendo as opções terapêuticas recomendadas na API e no tratamento de infecções estreptocócicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS - ACOG. Prevention of Group B Streptococcal Early-Onset Disease in Newborns: ACOG Committee Opinion, Number 797. *Obstet Gynecol.* v. 135, n. 2, 2020.

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasil. 2023. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiOTQzZTAxMjUtYjU1Mi00NGZkLTk3YzYtNmMxZTJkZDMzMjc4IiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVlZGQ4MSJ9&pageName=ReportSection4727081e4b30dc30a1b6>> Acesso em: 20 out. 2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasil. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica. 2013. p. 19. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-938617>>. Acesso em: 23 nov. 2023.

ARIAS, Bárbara; KOVACEC, Verónica; VIGLIAROLO, Laura; et al. Fluoroquinolone-Resistant *Streptococcus agalactiae* Invasive Isolates Recovered in Argentina. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, v. 25, n. 5, p. 739–743, 2019.

ASSEFA, Solomon; DESTA, Kassu; LEMA, Tsehaynesh. Group B streptococci vaginal colonization and drug susceptibility pattern among pregnant women attending in selected public antenatal care centers in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC pregnancy and childbirth*, v. 18, n. 1, p. 135, 2018.

BAE, Hye Gyung; HONG, Jungmi; KIM, Young-Jin; et al. A Retrospective National Study on Colonization Rate and Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus agalactiae* in Pregnant Korean Women, 2018-2020. *Yonsei Medical Journal*, v. 63, n. 8, p. 717–723, 2022.

BARROS, Rosana Rocha; DE SOUZA, Andréa Farias; LUIZ, Fernanda Baptista Oliveira. Polyclonal spread of *Streptococcus agalactiae* resistant to clindamycin among pregnant women in Brazil. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 71, n. 7, p. 2054–2056, 2016.

BARROS, Rosana Rocha; KEGELE, Fabíola Cristina Oliveira; DE PAULA, Geraldo Renato; et al. Molecular characterization of the first fluoroquinolone resistant strains of *Streptococcus agalactiae* isolated in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 16, n. 5, p. 476–478, 2012.

BARROS, Rosana Rocha. Antimicrobial Resistance among Beta-Hemolytic *Streptococcus* in Brazil: An Overview. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), v. 10, n. 8, p. 973, 2021.

BATTISTIN, Fernanda Rieth; MOTT, Mariana Preussler; DIAS, Cícero Armídio Gomes; et al. Suscetibilidade antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae* isolados de gestantes em um hospital materno infantil de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Scientia Medica*, v. 28, n. 3, p. ID30246–ID30246, 2018.

BEALL, B.; FACKLAM, R.; THOMPSON, T. Sequencing emm-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, n. 4, p. 953–958, 1996.

BOB-MANUEL, Mienye; MCGEE, Lesley; IGUNMA, Jeremiah A.; et al. Whole genome sequence based capsular typing and antimicrobial resistance prediction of Group B streptococcal isolates from colonized pregnant women in Nigeria. *BMC genomics*, v. 22, n. 1, p. 627, 2021.

BORGER, Irina Lermontov; D'OLIVEIRA, Rachel Elise Cerqueira; CASTRO, Angela Christina Dias De; 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, 2005.

BOTELHO, Ana Caroline N.; OLIVEIRA, Juliana G.; DAMASCO, Andreia P.; 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, p. e0196925, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2018. Portaria no. 64, de 11 de dezembro de 2018. Diário Oficial da União. 11 Dez 2018; seção 1.; p. 59. Disponível em: <https://bvs.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2018/prt0064_14_12_2018.html>. Acesso em: 8 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2020. Nota informativa nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS. Disponível em: <<https://www.mpf.mp.br/go/sala-de-imprensa/docs/not2496%20%20Nota%20Informativa%20MS-nr%209.pdf>>. Acesso em: 8 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à Saúde. Departamento de atenção básica. Atenção ao pré-natal de baixo risco. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à Saúde. Departamento de ações programáticas estratégicas. Gestação de alto risco: manual técnico. 2022.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING - BrCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Versão 13.0. 2023.

BROKAW, Alyssa; FURUTA, Anna; DACANAY, Matthew; et al. Bacterial and Host Determinants of Group B Streptococcal Vaginal Colonization and Ascending Infection in Pregnancy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, p. 720789, 2021.

CAMPO, C sar Hern n; MARTÍNEZ, María Fernanda; OTERO, Juan Carlos; et al. Vagino-rectal colonization prevalence by *Streptococcus agalactiae* and its susceptibility profile in pregnant women attending a third-level hospital. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional De Salud*, v. 39, n. 4, p. 689–698, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2022. Active Bacterial Core surveillance (ABCs) Bact Facts Interactive Data Dashboard. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/abcs/bact-facts-interactive-dashboard.html#print>>. Acesso em: 8 nov. 2023.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019; CDC: Atlanta, GA, USA, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: A Public Health Perspective. *MMWR* 45: 1-24. 1996.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease - Revised Guidelines from CDC, 2010. *MMWR*. 59:1-32. 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. 2023. EM 100 Connect – CLSI, M100 Ed 33: 2023. Disponível em: <[http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED33:2023&sbssok=CLSI%20M100%20ED33:2023%20TABLE%201N%20\[PREV\]](http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED33:2023&sbssok=CLSI%20M100%20ED33:2023%20TABLE%201N%20[PREV])>. Acesso em: 20 set. 2023

COSTA, Nat lia Silva; RIO-TINTO, André; PINTO, Isabella Bittencourt Ferreira; et al. Changes in Group B Streptococcus Colonization among Pregnant Women before and after the

Onset of the COVID-19 Pandemic in Brazil. *Pathogens* (Basel, Switzerland), v. 11, n. 10, p. 1104, 2022.

DILRUKSHI, Niluka; KOTTAHACHCHI, Jananie; DISSANAYAKE, Thushari; et al. Antibiotic Sensitivity of Group B Streptococcus from Pregnant Mothers and Its Association with Resistance Genes. *Medical Principles and Practice: International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, v. 32, n. 2, p. 126–132, 2023.

DO NASCIMENTO, Cilicia S.; DOS SANTOS, Nayara F. B.; FERREIRA, Rita C. C.; et al. *Streptococcus agalactiae* in pregnant women in Brazil: prevalence, serotypes, and antibiotic resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 50, n. 4, p. 943–952, 2019.

DORAN, Kelly S.; NIZET, Victor. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. *Molecular Microbiology*, v. 54, n. 1, p. 23–31, 2004.

DUTRA, Vanusa G.; ALVES, Valéria M. N.; OLENDZKI, André N.; et al. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. *BMC infectious diseases*, v. 14, p. 323, 2014.

EVANS, Terry John; DAVIDSON, Harriet Claire; LOW, Jen Mae; et al. Antibiotic usage and stewardship in patients with COVID-19: too much antibiotic in uncharted waters? *Journal of Infection Prevention*, v. 22, n. 3, p. 119–125, 2021.

FACKLAM R, WILKINSON H. The Family Streptococcaceae (Medical Aspects). In: *The prokaryotes. A handbook of habitats, isolation and identification of bacteria*. MP Starr, H Stolp, H Truper, A Ballows & H Schlegel (eds). Springer-Verlag. New York. p. 1572-1597. 1981.

FILKINS, Laura; HAUSER, Jocelyn R.; ROBINSON-DUNN, Barbara; et al. American Society for Microbiology Provides 2020 Guidelines for Detection and Identification of Group B Streptococcus. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 59, n. 1, p. e01230-20, 2020.

GENOVESE, Carlo; D'ANGELI, Floriana; DI SALVATORE, Valentina; et al. *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: serotype and antimicrobial susceptibility patterns over five years in Eastern Sicily (Italy). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 12, p. 2387–2396, 2020.

GERGOVA, Raina Tzvetanova; MUHTAROVA, Adile; TSITOU, Virna Maria; et al. Emergence of multidrug-resistant and -hypervirulent *Streptococcus agalactiae* in Bulgarian patients. *Balkan Medical Journal*, v. 38, n. 2, p. 143–144, 2021.

GIZACHEW, Mucheye; TIRUNEH, Moges; MOGES, Feleke; et al. *Streptococcus agalactiae* from Ethiopian pregnant women; prevalence, associated factors and antimicrobial resistance: alarming for prophylaxis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 18, n. 1, p. 3, 2019.

HEATH, Paul T.; SCHUCHAT, Anne. Perinatal group B streptococcal disease. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*, v. 21, n. 3, p. 411–424, 2007.

JUMBE, Nelson L.; LOUIE, Arnold; MILLER, Michael H.; et al. Quinolone Efflux Pumps Play a Central Role in Emergence of Fluoroquinolone Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, n. 1, p. 310–317, 2006.

KAWAMURA, Yoshiaki; FUJIWARA, Hiromitsu; MISHIMA, Noriko; et al. First *Streptococcus agalactiae* Isolates Highly Resistant to Quinolones, with Point Mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 47, n. 11, p. 3605–3609, 2003.

KHAN, Mubashir Ahmad; FAIZ, Aftab; ASHSHI, Ahmad Mohammad. Maternal colonization of group B streptococcus: prevalence, associated factors and antimicrobial resistance. *Annals of Saudi Medicine*, v. 35, n. 6, p. 423–427, 2015.

KHAN, Uzma Basit; PORTAL, Edward; SANDS, Kirsty; et al. Genomic Analysis Reveals New Integrative Conjugal Elements and Transposons in GBS Conferring Antimicrobial Resistance. *Antibiotics*, v. 12, p. 544, 2023.

KIMURA, Kouji; SUZUKI, Satowa; WACHINO, Jun-ichi; et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 52, n. 8, p. 2890–2897, 2008.

KIMURA, Kouji; WACHINO, Jun-ichi; KUROKAWA, Hiroshi; et al. Practical Disk Diffusion Test for Detecting Group B Streptococcus with Reduced Penicillin Susceptibility. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 47, n. 12, p. 4154–4157, 2009.

KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM. *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. Guanabara Koogan Ltda, 7ª Edição. 2018.

- LE DOARE, Kirsty; KAMPMANN, Beate. Breast milk and Group B streptococcal infection: vector of transmission or vehicle for protection? *Vaccine*, v. 32, n. 26, p. 3128–3132, 2014.
- LEE, Hyunju; KIM, Eu Suk; SONG, Kyoung-Ho; et al. Clinical and molecular epidemiology of invasive group B *Streptococcus* infections in adults in a referral center in Korea. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 12, p. 1407–1413, 2022.
- LÓPEZ, Yuly; PARRA, Elena; CEPAS, Virginio; et al. Serotype, virulence profile, antimicrobial resistance and macrolide-resistance determinants in *Streptococcus agalactiae* isolates in pregnant women and neonates in Catalonia, Spain. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica (English Ed.)*, v. 36, n. 8, p. 472–477, 2018.
- MA, Angela; THOMPSON, L. Alexa; CORSIATTO, Thomas; et al. Epidemiological Characterization of Group B *Streptococcus* Infections in Alberta, Canada: An Update from 2014 to 2020. *Microbiology Spectrum*, v. 9, n. 3, p. e0128321, 2021.
- MANOS, Jim. The human microbiome in disease and pathology. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, v. 130, n. 12, p. 690–705, 2022.
- MCEWEN, Scott A.; COLLIGNON, Peter J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, v. 6, n. 2, 2018.
- MCGEE, Lesley; CHOCHUA, Sopio; LI, Zhongya; et al. Multistate, population-based distributions of candidate vaccine targets, clonal complexes, and resistance features of invasive Group B *Streptococci* within the US: 2015–2017. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 72, n. 6, p. 1004–1013, 2021.
- MELO, Simone Cristina Castanho Sabaini De; SANTOS, Nathally Claudiane De Souza; OLIVEIRA, Marcia De; et al. ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Streptococcus agalactiae* ISOLATED FROM PREGNANT WOMEN. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 58, n. 0, 2016.
- MORGUETTE, Ana Elisa Belotto; BIASI-GARBIN, Renata Perugini; OTAGUIRI, Eliane Saori; et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women seen at the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 39, n. 1, p. 77–84, 2018.

- MULLER, Anouk E.; OOSTVOGEL, Paul M.; STEEGERS, Eric A. P.; et al. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica*, v. 85, n. 9, p. 1027–1037, 2006.
- NAKAMURA, Priscila A. M.; SCHUAB, Rôde Beatriz B.; NEVES, Felipe P. G.; et al. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of *Streptococcus agalactiae*. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 106, n. 2, p. 119–122, 2011.
- NOMURA, Marcelo Luís; PASSINI JÚNIOR, Renato; OLIVEIRA, Ulysses Moraes; 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, p. 397–403, 2009.
- OTAGUIRI, Eliane Saori; MORGUETTE, Ana Elisa Belotto; TAVARES, Eliandro Reis; et al. Commensal *Streptococcus agalactiae* isolated from patients seen at University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil: capsular types, genotyping, antimicrobial susceptibility and virulence determinants. *BMC Microbiology*, v. 13, p. 297, 2013.
- OTEO, Jesús; BOU, Germán; CHAVES, Fernando; et al. Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 35, n. 10, p. 667–675, 2017.
- PALACIOS-SAUCEDO, Gerardo Del Carmen; RIVERA-MORALES, Lydia Guadalupe; VÁZQUEZ-GUILLÉN, José Manuel; et al. Genomic analysis of virulence factors and antimicrobial resistance of group B Streptococcus isolated from pregnant women in northeastern Mexico. *PloS One*, v. 17, n. 3, p. e0264273, 2022.
- PALMEIRO, Jussara K.; DALLA-COSTA, Libera M.; FRACALANZZA, Sérgio E. L.; et al. Phenotypic and genotypic characterization of group B streptococcal isolates in southern Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48, n. 12, p. 4397–4403, 2010.
- PARK, Connie; NICHOLS, Megin; SCHRAG, Stephanie J. Two Cases of Invasive Vancomycin-Resistant Group B Streptococcus Infection. *New England Journal of Medicine*, v. 370, n. 9, p. 885–886, 2014.

PAUL, Prama; GONÇALVES, Bronner P.; LE DOARE, Kirsty; et al. 20 million pregnant women with group B streptococcus carriage: consequences, challenges, and opportunities for prevention. *Current Opinion in Pediatrics*, v. 35, n. 2, p. 223–230, 2023.

PEREIRA-MAIA, Elene Cristina; SILVA, Priscila Pereira; ALMEIDA, Wagner Batista De; et al. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 700–706, 2010.

PÉREZ-TRALLERO, Emilio; MONTES, Milagrosa; ORDEN, Beatriz; et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Streptococcus pyogenes* Isolates Displaying the MLSB Phenotype of Macrolide Resistance in Spain, 1999 to 2005. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, n. 4, p. 1228–1233, 2007.

RAABE, Vanessa N.; SHANE, Andi L. Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). *Microbiology Spectrum*, v. 7, n. 2, 2019.

SAFARI, Dodi; GULTOM, Septiani Madonna; TAFROJI, Wisnu; et al. Prevalence, serotype and antibiotic susceptibility of Group B Streptococcus isolated from pregnant women in Jakarta, Indonesia. *PloS One*, v. 16, n. 5, p. e0252328, 2021.

SANTANA, Fabrícia Almeida Fernandes; DE OLIVEIRA, Tais Viana Ledo; FILHO, Marcelo Barreto de Souza; et al. *Streptococcus agalactiae*: Identification methods, antimicrobial susceptibility, and resistance genes in pregnant women. *World Journal of Clinical Cases*, v. 8, n. 18, p. 3988–3998, 2020.

SEKI, Tomomi; KIMURA, Kouji; REID, Megan E.; et al. High isolation rate of MDR group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in Japan. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 70, n. 10, p. 2725–2728, 2015.

SHABAYEK, Sarah; SPELLERBERG, Barbara. Group B Streptococcal Colonization, Molecular Characteristics, and Epidemiology. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 437, 2018.

SOUZA, Viviane C.; KEGELE, Fabíola C. O.; SOUZA, Selma R.; et al. Antimicrobial susceptibility and genetic diversity of *Streptococcus agalactiae* recovered from newborns and pregnant women in Brazil. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, v. 45, n. 10, p. 780–785, 2013.

SUTCLIFFE, J.; TAIT-KAMRADT, A.; WONDRACK, L. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 40, n. 8, p. 1817–1824, 1996.

TAKEMOTO, Maira Libertad Soligo; NAKAMURA-PEREIRA, Marcos; MENEZES, Mariane de Oliveira; et al. Higher case fatality rate among obstetric patients with COVID-19 in the second year of pandemic in Brazil: do new genetic variants play a role? (preprint). 2021.

TONIOLO, Chiara; BALDUCCI, Evita; ROMANO, Maria Rosaria; et al. *Streptococcus agalactiae* Capsule Polymer Length and Attachment Is Determined by the Proteins CpsABCD. *Journal of Biological Chemistry*, v. 290, n. 15, p. 9521–9532, 2015.

TEIXEIRA, M. Lúcia; MERQUIOR, C. L. Vânia; PINTO, A. C. Tatiana. *Streptococcus agalactiae*. TRABULSI, LR & ALTERTHUM F. *Microbiologia*. 6ª edição. Editora Atheneu 2015. cap 23. p. 201-208.

VAN DU, Vu; DUNG, Pham Thai; TOAN, Nguyen Linh; et al. Antimicrobial resistance in colonizing group B *Streptococcus* among pregnant women from a hospital in Vietnam. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 20845, 2021.

VERMA, Shalini; KUMARI, Monika; PATHAK, Anurag; et al. Antibiotic resistance, biofilm formation, and virulence genes of *Streptococcus agalactiae* serotypes of Indian origin. *BMC microbiology*, v. 23, n. 1, p. 176, 2023.

VORNHAGEN, Jay; ADAMS WALDORF, Kristina M.; RAJAGOPAL, Lakshmi. Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. *Trends in Microbiology*, v. 25, n. 11, p. 919–931, 2017.

WANG, Jing; ZHANG, Yan; LIN, Miao; et al. Maternal colonization with group B *Streptococcus* and antibiotic resistance in China: systematic review and meta-analyses. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 22, n. 1, p. 5, 2023.

ZAKERIFAR, Mona; KABOOSI, Hami; GOLI, Hamid Reza; et al. Antibiotic resistance genes and molecular typing of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women. *BMC pregnancy and childbirth*, v. 23, n. 1, p. 43, 2023.