

ARTIGO ORIGINAL

Prevalência da colonização por *Streptococcus agalactiae* em gestantes atendidas na rede pública de saúde de Santo Ângelo/RS *Prevalence of Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women treated in the public health network in Santo Ângelo/RS

Franciane Rios Senger¹, Izabel Almeida Alves¹, Débora da Cruz Payão Pellegrini², Daiane Cristina Prestes³, Edú Fraga de Souza¹, Ezequiel Dalla Corte¹

¹Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Santo Ângelo, RS, Brasil

²Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil.

³Hospital Santo Ângelo, Santo Ângelo, RS, Brasil.

Recebido em: 22/06/2015

Aceito em: 11/11/2015

Disponível online: 24/03/16

ialvesfar@urisan.com.br

DESCRIPTORES

Streptococcus agalactiae;
Gravidez;
Prevalência.

KEYWORDS

Streptococcus agalactiae;
Pregnancy;
Prevalence.

RESUMO

Justificativa e Objetivos: O *Streptococcus agalactiae* (EGB) faz parte da microbiota do trato genital feminino, no entanto, a sua importância clínica é relacionada a casos de infecção em neonatos, podendo acarretar quadros graves de pneumonia, septicemia e meningite. Com isso, o objetivo deste estudo foi estimar a prevalência da colonização por *S. agalactiae* em gestantes e analisar o perfil de sensibilidade das amostras frente a antimicrobianos. **Métodos:** Foram coletadas amostras vaginal e anorretal de gestantes com mais de 30 semanas de gestação, no período de fevereiro a junho de 2013. As amostras foram armazenadas em meio de transporte Stuart e, em seguida, inoculadas em caldo Todd-Hewitt adicionado de gentamicina e ácido nalidixico, com posterior subcultivo em placas de ágar sangue. Para identificação foram realizados os testes de Gram, catalase, CAMP e aglutinação em látex. Além disso, foram realizados os testes de sensibilidade aos antimicrobianos e o teste para a detecção de resistência induzida a clindamicina nas amostras resistentes a eritromicina. Foi avaliado também, por meio de entrevista, os dados demográficos, socioeconômicos e clínico-obstétricos. **Resultados:** Observou-se colonização em 22,5% (18/80) das gestantes analisadas. Os isolados foram sensíveis a grande maioria dos antimicrobianos testados, com exceção à eritromicina, evidenciando uma resistência em 22,2% (4/18) dos isolados. No entanto, nenhuma das amostras resistentes a eritromicina apresentou resistência induzida a clindamicina. **Conclusão:** A elevada colonização materna pelo *S. agalactiae* encontrada, enfatiza a importância do isolamento dessa bactéria no final da gestação, prevenindo a ocorrência da infecção neonatal.

ABSTRACT

Background and Objectives: *Streptococcus agalactiae* (GBS) is part of the female genital tract microbiota; however, its clinical importance is related to infections in newborns, which can cause severe pneumonia, septicemia and meningitis. Thus, the aim of this study was to estimate the prevalence of colonization by *S. agalactiae* in pregnant women and analyze the sensitivity profile of the samples to antimicrobials. **Methods:** Vaginal and anorectal samples of pregnant women over 30 weeks of gestation were collected from February to June 2013. The samples were stored in Stuart's medium and then inoculated into Todd-Hewitt broth plus gentamicin and nalidixic acid, with subsequent subculture on blood agar plates. Gram, catalase, CAMP and latex agglutination tests were performed for microorganism identification. Additionally, antimicrobial susceptibility tests and tests for the detection of induced resistance to clindamycin in strains resistant to erythromycin were also performed. Demographic, socioeconomic, clinical and obstetric data were also assessed through interviews. **Results:** Colonization was observed in 22.5% (18/80) of the assessed pregnant women. The strains were

sensitive to most of the tested antibiotics, except erythromycin, which showed resistance in 22.2% (4/18) of the isolates. However, none of the samples resistant to erythromycin showed induced resistance to clindamycin.

Conclusion: The high rate of maternal colonization by *S. agalactiae* found in the study emphasizes the importance of isolating this microorganism in late pregnancy, aiming to prevent the occurrence of neonatal infection.

INTRODUÇÃO

Streptococcus agalactiae, também denominado de Estreptococos do grupo B (EGB) é um coco Gram-positivo, pertencente ao grupo sorológico B de *Lancefield*, que está presente no trato geniturinário e gastrointestinal de humanos.¹ Em gestantes, o EGB, é associado a infecções como cistite, pielonefrite, endometrite, além de comprometimento na evolução da gestação, com possível ocorrência de abortamento, morte fetal intra-uterina, corioamnionite, ruptura precoce de membrana e parto prematuro. As taxas de colonização variam de 10 a 30% entre as gestantes. Já no recém-nascido, o EGB é responsável por quadros graves de septicemia e meningite, podendo manifestar-se de forma precoce, logo após o nascimento ou até mesmo de sete a 90 dias de vida, na forma tardia.^{2,3}

A forma precoce da infecção em neonatos manifesta-se nas primeiras 24 horas ou até o sétimo dia após o nascimento, e corresponde a 85% das infecções neonatais. O micro-organismo é adquirido principalmente na passagem do recém-nascido pelo canal vaginal materno, pela exposição direta ao EGB. Podendo desencadear infecções das vias aéreas do neonato, como a pneumonia, o que possibilita a disseminação da bactéria para a corrente sanguínea, permitindo sua invasão em múltiplos tecidos.¹⁻⁴

Já a doença tardia manifesta-se entre sete e 90 dias de vida. O processo infeccioso pode ocorrer pela aquisição do micro-organismo no momento do parto, ou pela aquisição pós-natal do micro-organismo a partir da mãe colonizada, de outras pessoas ou do ambiente hospitalar. O quadro clínico predominante é a meningite, que apesar de apresentar uma menor taxa de mortalidade, possui uma alta taxa de morbidade, visto que grande parte dos pacientes desenvolve sequelas neurológicas.^{2,5,6}

Em 1970, nos Estados Unidos, a doença invasiva causada pelo EGB surgiu como a principal causa de morbimortalidade neonatal, chegando a ter 50% de casos de letalidade. Preocupados com a incidência e a gravidade desta infecção, em 1996, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), o *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) e o *American Academy of Pediatrics*, publicaram o primeiro guia com as recomendações sobre a profilaxia intraparto para prevenir a doença causada pelo EGB. Esse guia recomendava a prescrição da profilaxia antibiótica intraparto em duas situações: em todas as gestantes colonizadas, de acordo com os resultados das culturas realizadas entre a 35ª e a 37ª semana de gravidez e em grávidas que não haviam sido submetidas à pesquisa do EGB, mas que apresentam alguns dos fatores de risco, tais como: trabalho de parto anterior à 37ª semana de gestação, febre intraparto igual ou superior a 38°C e ruptura prematura das membranas com duração maior que 18 horas. Os antibacterianos de

escolha segundo as recomendações do CDC eram: penicilina G cristalina ou ampicilina e, nos casos de alergia à betalactâmicos utilizava-se eritromicina ou clindamicina.⁴

Em 2002, o CDC lançou uma atualização das "Recomendações para a prevenção da doença estreptocócica perinatal", onde orienta que fosse realizada a investigação rotineira da colonização pelo EGB em todas as gestantes com idade gestacional entre a 35ª e a 37ª semana, através de cultura do material vaginal e anorectal.⁷

Entretanto, a terceira versão das diretrizes do CDC foram propostas em 2010, promovendo algumas alterações nas orientações de 2002. Suas principais recomendações se baseiam na revisão das técnicas laboratoriais, na atualização de algoritmos para a gestão dos recém-nascidos no que diz respeito ao risco da doença de início precoce, nas mudanças das doses de penicilina e nos casos de alergia a penicilina, modificando o regime de profilaxia.³

Considerando o alto índice de morbimortalidade por infecção neonatal causada pelo EGB e a ausência de dados sobre a colonização em gestantes no município de Santo Ângelo-RS, esse trabalho teve como objetivo determinar a prevalência da colonização pelo *Streptococcus agalactiae* em gestantes a partir da 30ª semana de gestação e analisar o perfil de sensibilidade deste micro-organismo aos antimicrobianos.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo e transversal, realizado de fevereiro a junho de 2013. Foram incluídas 80 gestantes que apresentassem idade gestacional a partir da 30ª semana, atendidas no Centro de Apoio a Gestante e na maternidade do Hospital Santo Ângelo, pelo Sistema Único de Saúde do município de Santo Ângelo-RS. Foram excluídas as gestantes que não completaram a 30ª semana de gestação, menores de 18 anos, em uso de antibioticoterapia, além das que recusaram-se à participar do estudo.

Para traçar o perfil da população em estudo, foi realizada uma entrevista individual, utilizando-se um questionário, com perguntas pré-definidas, sobre dados demográficos, socioeconômicos e clínico-obstétricos como idade, período gestacional, abortos anteriores, paridade, renda e cor da pele.

Foram coletadas amostras do terço inferior da vagina e da região anorretal ultrapassando o esfíncter anal interno, com *swabs* esterilizados e inoculados separadamente em meio de transporte não nutritivo (*Stuart*). O tempo transcorrido entre a coleta e o processamento do material foi de no máximo duas horas.

Para o isolamento do micro-organismo, foi utili-

zada a técnica de enriquecimento em cultivo no caldo *Todd-Hewitt* suplementado com gentamicina (8 µg/mL) e ácido nalidixico (15 µg/mL), conforme recomenda o CDC. Após incubação de 24 horas a 35°C, realizou-se o subcultivo em ágar sangue de carneiro 5%, sendo então incubado por mais 24 horas a 35°C.

Das colônias sugestivas de EGB (cor acinzentada, β-hemolíticas ou não hemolíticas), foi realizada a bacterioscopia pelo método de Gram e observado no microscópio. As que apresentaram cocos Gram-positivos foram testadas quanto à capacidade de produzir catalase e o fator CAMP. Os micro-organismos catalase negativo e CAMP positivo foram considerados com identificação presuntiva positiva para *Streptococcus agalactiae* e submetidos ao teste confirmatório através da determinação do grupo sorológico, utilizando-se o teste comercial para a identificação de *Streptococcus* (*SlidexStrepto Plus B, Bio-mérieux*), de acordo com as recomendações do fabricante.

A avaliação da suscetibilidade antimicrobiana foi realizada pelo teste de difusão em ágar conforme recomendações do *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI).⁸ A partir de culturas recentes, foram preparadas suspensões das amostras em solução salina esterilizada, correspondente a turvação 0,5 da Escala de *McFarland*. As suspensões foram semeadas em ágar *Mueller Hinton*, acrescido de 5% de sangue de carneiro, onde então foram posicionados os discos contendo os antibióticos. Os antibióticos testados foram: penicilina (10 U); ceftriaxona (30 µg); eritromicina (15 µg); clindamicina (2 µg); cloranfenicol (30 µg); vancomicina (30 µg). Nas amostras resistentes a eritromicina, foi avaliada a resistência induzível à clindamicina. Para a execução desse ensaio, um disco de 2 µg de clindamicina foi colocado a uma distância de 12 mm da borda de um disco de 15 µg de eritromicina. Após incubação, as amostras que não apresentaram achatamento do halo de clindamicina foram relatadas como sensíveis à clindamicina.⁸

Os dados das gestantes foram analisados de forma descritiva e expressos em médias e percentuais. Na análise estatística foram utilizados os testes de χ^2 de *Pearson* e *Kruskal-Wallis* para avaliar potenciais fatores de risco para a colonização de EGB, considerando como nível de significância $p \leq 0,05$ e intervalo de confiança de 95%. As análises foram realizadas nos softwares *Epi-Info 7.1.1.14* e *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 18.0.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), sob parecer nº 183.196. Todas as gestantes que participaram foram esclarecidas quanto à realização da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

RESULTADOS

A idade das 80 gestantes avaliadas variaram de 19 a 39 anos (25,26 ± 5,33 anos). A idade gestacional variou de 30 a 41 semanas, com a média de 34,78 ± 3,72 semanas. Em relação à paridade, 52,5% (42/80) eram múltiparas (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil das participantes, segundo idade, período gestacional, aborto, paridade, renda e cor de pele.

	Grupo	Participantes n=80	
		n	%
Idade	≤20 anos	19	23,75%
	>20 anos	61	76,25%
Período Gestacional	30-32 semanas	25	31,25%
	33-35 semanas	17	21,25%
	36-38 semanas	24	30%
	39- 41 semanas	14	17,5%
Abortos anteriores	Sim	10	12,5%
	Não	70	87,5%
Paridade	Primíparas	38	47,5%
	Múltiparas	42	52,5%
Renda	<3 salários	5	6,25%
	>3 salários	75	93,75%
Cor da pele	Não branca	6	7,5%
	Branca	74	92,5%

Tabela 2. Análise dos fatores de risco quanto à colonização do EGB nas gestantes estudadas.

	Colonizadas n=18		Não Colonizadas n=62		p	
	n	%	n	%		
Idade	≤20 anos	4	21,05%	15	78,94%	0,86
	>20 anos	14	22,95%	47	77,04%	
Período Gestacional (semanas)	30 a 32	7	38,89%	18	29,03%	0,59
	33 a 35	5	27,78%	12	19,35%	
	36 a 38	4	22,22%	20	32,26%	
	39 a 41	2	11,11%	12	19,35%	
Paridade	Primípara	10	26,31%	28	73,68%	0,43
	Múltipara	8	19,04%	34	80,95%	
Aborto	Não	15	21,42%	55	78,57%	0,54
	Sim	3	10%	7	70%	
Renda	<3 salários	17	23,61%	58	77,33%	0,89
	>3 salários	1	20%	4	80%	
Cor da pele	Não branca	1	16,67%	5	83,34%	0,72
	Branca	17	22,97%	57	77,03%	

Do grupo estudado, 27 (33,75%) apresentaram, identificação presuntiva positiva para o *Streptococcus agalactiae*. Destes, somente 18 apresentaram resultado positivo confirmado pelo teste sorológico *Slidex Strepto Plus B (Biomérieux)*, resultando na prevalência de 22,5% de gestantes colonizadas. Não foram encontradas associações entre as variáveis estudadas com a presença da colonização pelo EGB (Tabela 2).

As 18 amostras positivas foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, sendo encontrada resistência somente a eritromicina (22,2%), como demonstra a tabela 3. Em relação às amostras resistentes a eritromicina, nenhuma apresentou achatamento do halo de clindamicina, não sendo caracterizada resistência induzível a este antimicrobiano.

Tabela 3. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

Agente microbiano	Sensibilidade n=18		Resistência (%)	
	n	%	n	%
Penicilina	18	100,0	0	0
Ceftriaxona	18	100,0	0	0
Vancomicina	18	100,0	0	0
Eritromicina	14	77,8	4	22,2
Cloranfenicol	18	100,0	0	0
Clindamicina	18	100,0	0	0

DISCUSSÃO

A colonização materna pelo EGB detectada neste estudo foi de 22,5% (18/80). O percentual de colonização observado corrobora com o apresentado na literatura, cuja média internacional gira em torno de 10 a 30%.³ No Brasil, os dados sobre a colonização são semelhantes ao relatado anteriormente, com taxas de 11,1% no Rio Grande do Sul e 25,4% em São Paulo.^{9,10} Em outros países esse percentual se mantém, como por exemplo, em uma pesquisa realizada na Etiópia, em 2010, a taxa de colonização foi de 20,9%.¹¹ Já no Irã e na Suíça, a prevalência foi de 22,8% e 21%, respectivamente.^{12,13} Os dados sobre a colonização pelo EGB são por muitas vezes fragmentados e escassos, podendo apresentar variação dependendo da localização geográfica, da característica da população, do sítio de coleta e da metodologia bacteriológica empregada.^{7,14} Alguns estudos demonstraram que fatores de risco como idade materna, cor da pele, paridade, tabagismo e renda, estão relacionados com a colonização pelo EGB.^{15,16} No entanto, não foram encontradas variáveis significativamente relacionadas neste estudo, reforçando a ideia que a pesquisa do EGB deva ser realizada em todas as gestantes não somente nas que apresentarem fatores de risco associados.

Atualmente a penicilina continua sendo a droga de escolha na profilaxia antimicrobiana intraparto, devido a apresentar um espectro estreito de atividade, sendo menos propensa a selecionar micro-organismos resistentes.³ Nos casos de alergia a penicilina, o CDC

recomenda o uso de clindamicina, desde que esta não apresente resistência induzível nos casos de cepas resistentes a eritromicina. Devido ao crescente aparecimento de resistência a esses fármacos, torna-se indispensável a realização do teste de susceptibilidade antimicrobiana.^{3,17}

Nesta pesquisa, 22,2% dos isolados mostraram-se resistentes a eritromicina, resultados semelhantes foram encontrados na França, na Turquia e também no Brasil, 21,4%, 20% e 22,7%, respectivamente.¹⁸⁻²⁰ No entanto, nenhuma das amostras resistentes a eritromicina demonstrou resistência induzível a clindamicina, tornando esta uma opção viável nos casos de alergia a penicilina.

Ademais, esta pesquisa corroborou com os resultados descritos por Costa (2007), em um estudo realizado com gestantes durante o trabalho de parto em uma maternidade em São Luís do Maranhão, onde todas as cepas foram sensíveis ao cloranfenicol e a vancomicina.¹⁷

Devido ao risco que a doença estreptocócica representa para a gestante e o recém-nascido, e as elevadas taxas de prevalência relatadas, fica evidente a necessidade da pesquisa pelo EGB entre a 35ª e a 37ª semana de gestação para todas as gestantes, permitindo assim delinear alternativas eficazes de diagnóstico e tratamento materno, reduzindo a transmissão vertical deste patógeno e diminuindo os casos de infecção neonatal precoce. O uso da profilaxia antibiótica intraparto tem se mostrado eficiente na prevenção da transmissão vertical do EGB, no entanto, é importante conhecer o perfil de sensibilidade dos micro-organismos aos antimicrobianos, a fim de realizar uma escolha racional do antimicrobiano a ser utilizado.

REFERÊNCIAS

1. Nakamura PAM, Schuab RBB, Neves FPG, et al. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of *Streptococcus agalactiae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011;106(2):119-22. doi: 10.1590/S0074-02762011000200001.
2. Areal A, Nunes S, Moreira M, et al. Infecção perinatal por *Streptococcus agalactiae* pode ser evitada: Prevalência da colonização em parturientes no Hospital São Marcos, factores de risco e a sua relação com a infecção perinatal. *Acta Pediatr Port* 2010;41(1):16-21.
3. Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR* 2010;59(RR-10):1-32.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. *MMWR* 1996;45(RR-7):1-24.
5. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 2000;342:15-20. doi: 10.1056/NEJM200001063420103.
6. Chaves BA. Estudo da colonização por *Streptococcus agalactiae*, de mulheres em idade fértil, na área metropolitana do Porto [dissertação]. Porto (POR): Universidade do Porto; 2011.
7. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, et al. Prevention of perinatal

- group B *streptococcal* disease: revised guidelines from CDC. MMWR 2002;51(RR-11): 1-22.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2013.
 9. Veit AR, Horner R, Roehrs MCSM, et al. Colonization prevalence and susceptibility of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women at HUSM. Rev Saúde (Santa Maria) 2010;36(1):9-14. doi: 10.592/22365834.
 10. Marconi C, Rocchetti TT, Rall VLM. Detection of *Streptococcus agalactiae* colonization in pregnant women by using combined swab cultures: cross-sectional prevalence study. Med J 2010; 128(2):60-2. doi: 10.1590/S1516-31802010000200003.
 11. Mohammed M, Asrat D, Woldeamanuel Y, et al. Prevalence of group B *Streptococcus* colonization among pregnant women attending antenatal clinic of Hawassa Health Center, Hawassa, Ethiopia. Ethiop J Health Dev 2010;26(1):36-42.
 12. Javanmanesh F, Eshraghi N. Prevalence of positive recto-vaginal culture for Group B streptococcus in pregnant women at 35-37 weeks of gestation. MJIRI 2013;27(1):7-11.
 13. Rausch AV, Gross A, Droz S, et al. Group B *Streptococcus* colonization in pregnancy: prevalence and prevention strategies of neonatal sepsis. J Perinat Med 2009;37(2):124-9. doi: 10.1515/JPM.2009.020.
 14. Pogere A, Zoccoli CM, Touti NR, et al. Prevalência da colonização pelo *estreptococo* do grupo B em gestantes atendidas em um ambulatório de pré-natal. Rev Bras Ginecol Obstet 2005; 27 (4): 174-80. doi: 10.1590/S0100-72032005000400003.
 15. Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. Clin Microbiol Rev 1998;11(3):497-513.
 16. Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Obstet Gynecol 1991; 77(4):604-10.
 17. Costa ALR. Colonização pelo *estreptococo* do grupo B em gestantes durante o trabalho de parto em uma maternidade em São Luis, Maranhão [dissertação]. São Luis (MA): Universidade Federal do Maranhão; 2007.
 18. De Mouy D, Cavallo JD, Leclercq R, et al. Antibiotic susceptibility and mechanisms of erythromycin resistance in clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*: french multicenter study 2001;45 (8):2400-2.
 19. Barbaros L, Murat C, Mehmet V, et al. The colonization incidence of group B *streptococcus* in pregnant women and their newborns in Istanbul. Brazi J Microbiol 2010;41(4):1047-55.
 20. Castellano-Filho DS, Silva VL, Nascimento TC, et al. Detection of group B *Streptococcus* in Brazilian pregnant women and antimicrobial susceptibility patterns. Brazi J Microbiol 2010;41 (4):1047-55. doi: 10.1590/S1517-83822010000400024.