

COLONIZAÇÃO MATERNA POR ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B: PREVALÊNCIA E SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

GROUP B STREPTOCOCCUS COLONIZATION IN PREGNANT WOMEN: PREVALENCE AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY

Nayara Gonçalves Barbosa¹, Denise von Dolinger de Brito¹, Heloísio dos Reis², Orlando Cesar Mantese³, Marisa Márcia Mussi Pinhata⁴, Vânia Olivetti Steffen Abdallah², Paulo Pinto Gontijo Filho¹

Resumo

Introdução: Estreptococos do Grupo B (EGB) é um importante agente etiológico de infecção neonatal e a colonização das mucosas vaginal/anal materna é fator de risco para transmissão vertical dessa bactéria. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de colonização de mucosas vaginal e anal pelo EGB em gestantes a partir da 35^ª semana, características sócio-demográficas e clínicas desta população e o espectro de susceptibilidade aos antimicrobianos. **Métodos:** Coorte prospectiva incluindo 108 gestantes admitidas no serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas de Uberlândia, de fevereiro de 2011 a julho de 2011. A coleta de material clínico foi realizada por meio de dois swabs. As culturas positivas foram identificadas pelas características: morfo-tinturiais, testes de CAMP e de aglutinação em látex. Os dados foram por meio de consultas aos prontuários e entrevistas. Para o cálculo do valor p utilizou-se o teste exato de Fisher (SAS versão 9.2). **Resultados:** A taxa de colonização por EGB foi alta, (17,5%). O perfil sócio-demográfico evidenciou mulheres com idade média de 24 anos, casadas/união estável (84,2%), multigestas (61,3%), histórico de aborto em 15,7%. As frequências de amostras resistentes a clindamicina e eritromicina foram de 10,6% e 12,6%, respectivamente. **Conclusão:** Os resultados evidenciaram uma alta taxa de colonização materna pelo EGB, sobretudo na mucosa vaginal, em mulheres jovens e multigestas. As amostras de EGB apresentaram frequências baixas de resistência a clindamicina e eritromicina.

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*. Colonização. Gestantes.

Abstract

Introduction: Group B streptococcus is an important etiological agent of newborn infections and the maternal mucosa (vaginal/anal) colonization is a risk factor to vertical transmission of this bacteria. **Objective:** To evaluate the occurrence of vaginal and anal colonization by Group B streptococcus in pregnant women from 35th week, clinical and sociodemographic data and to evaluate the susceptibility of the isolates to antimicrobial agents. **Methods:** Prospective cohort study including 108 pregnant women attended at the Gynecology and Obstetrics settings of the Hospital das Clínicas de Uberlândia between February 2011 to July 2011. The clinical specimens were obtained by two swabs. The positive cultures were indentified through the following characteristics: colony morphology, CAMP and serological test. Maternal risk factors associated to colonization was obtained to medical records and interview. The p-value was calculated through SAS software, 9.2. version. **Results:** The frequency of colonization was high (17.5%). The pregnant women sociodemographical profile evidenced the following characteristics: mean age of 24 years, married/stable union (82.4%), multiparity (61.3%), previous abortion (15.7%). Resistance to clindamycin and erythromycin was detected in 10.6 and 12.6% of the isolates, respectively. **Conclusion:** The results evidenced a high rate of vaginal GBS colonization, in young and multiparous women. The GBS samples presented low frequencies of clindamycin and erythromycin resistance.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*. Colonization. Pregnant women.

Introdução

Estreptococos do grupo B (EGB) ou *Streptococcus agalactiae* é um coco Gram positivo, importante agente de infecções em neonatos, gestantes e puérperas¹⁻³. Na década de 1970, o EGB emergiu como a principal causa de sepse neonatal nos hospitais dos Estados Unidos, com mortalidade superior a 50%, e com grande impacto na assistência perinatal²⁻⁴. Atualmente, com os avanços na assistência materno-infantil e implementação de medidas profiláticas, a mortalidade por este agente foi drasticamente reduzida para 4-6% neste país^{1,2,5}.

O principal reservatório do EGB em humanos é o trato gastrointestinal, seguindo-se o geniturinário². Nos Estados Unidos, aproximadamente 10-30% das gestantes estão colonizadas^{2,5,6}, enquanto em países em desen-

volvimento a situação é menos conhecida em decorrência de poucos estudos, carência de laboratórios e utilização de técnicas de coleta de espécimes e cultivo primário deficientes, a real proporção de colonização por EGB^{4,7,8} é subestimada. Entretanto, estudos de colonização de gestantes realizados em países em desenvolvimento, quando da utilização de métodos de cultura validados, relataram taxas de colonização por EGB pouco diferentes daquelas de países desenvolvidos^{7,8}.

Em função da colonização materna por EGB representar um importante fator de risco para sepse neonatal precoce, a sua investigação é de relevância epidemiológica. O objetivo do estudo foi avaliar a prevalência de colonização por EGB nas mucosas vaginal e anal de gestantes a partir da 35^ª semana, as características demográficas e clínicas desta população e o

¹ Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia. Universidade Federal de Uberlândia - UFU.

² Faculdade de Medicina, Departamento de Neonatologia. Universidade Federal de Uberlândia - UFU.

³ Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria. Universidade Federal de Uberlândia - UFU.

⁴ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Pediatria. Universidade de São Paulo - USP.

Contato: Nayara Gonçalves Barbosa. E-mail: nagbarbosa@gmail.com

espectro de susceptibilidade das amostras isoladas aos antimicrobianos.

Métodos

Estudo prospectivo, transversal, incluindo 108 gestantes a partir do terceiro trimestre, assistidas nos ambulatório, enfermaria e pronto socorro de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, (HC-U), no período de fevereiro de 2011 à julho de 2011. A coleta de dados foi realizada por meio de ficha individual contendo questões relacionadas aos dados demográficos, socioeconômicos, clínicos, obstétricos, com entrevista e consulta ao prontuário.

Foram realizadas coletas de material clínico para avaliação da colonização por EGB nas mucosas vaginal e anal de gestantes, a partir da 35ª semana, com uso de um *swab* para cada sítio anatômico. Os *swabs* foram inoculados em meio de *Stuart*, e encaminhados ao laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), e incubados por 24 horas à 37°C, em meio *Todd Hewitt* (Difco, Estados Unidos), com 8 µg/ml de gentamicina e 15 µg/ml de ácido nalidíxico. Em seguida, foram subcultivados em placas de Agar sangue (*Tryptic Soy Agar*, Oxoid, Reino Unido, acrescido de 5% sangue de carneiro desfibrinado), e incubado por 24 horas à 48 horas em estufa à 37° C, em condições de microaerofilia.

As colônias de EGB foram identificadas a partir da observação do padrão de beta hemólise das colônias sugestivas em Agar sangue, características morfo-tinturiais na coloração de Gram, teste da catalase, teste de CAMP, e o teste de aglutinação com látex (SLIDEX® Strepto Plus B, bioMérieux, França).

Os perfis de susceptibilidade aos antibióticos foram definidos pelo método de difusão em Agar, conforme as recomendações do “*Clinical and Laboratory Standards Institute*”⁹. As amostras foram cultivadas em meio de “*Mueller Hinton*” (Difco, Estados Unidos), acrescido de 5% de sangue, com utilização dos seguintes discos de antibióticos: penicilina (10 UI) (Laborclin, Brasil), ampicilina (10 µg), linesolida (30 µg), vancomicina (30 µg), eritromicina (15 µg) e clindamicina (2 µg) (DME, Brasil). A leitura foi realizada após 24 horas de incubação, através dos halos de inibição de crescimento bacteriano ao redor dos discos.

Para o cálculo do valor *p* foi utilizado-se o teste exato de Fisher, através do software SAS versão 9.2, para análise comparativa entre os grupos de gestantes colonizadas e não colonizadas pelo EGB.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia com o parecer N° 653/11.

Resultados

Durante o período de estudo, foram coletados espécimes clínicos de 108 gestantes, com a detecção do EGB em 19 mulheres, correspondente a uma taxa de colonização de 17,5%. O sítio colonizado mais frequente foi o vaginal, seguido pela colonização concomitante dos sítios anal e vaginal (Tabela 1).

A idade média das gestantes colonizadas foi de

Tabela 1 - Colonização de mucosas vaginal e anal por *Streptococcus* do Grupo B em gestantes. Hospital das Clínicas, Uberlândia, 2011.

Sítio anatômico	Colonização por EGB	
	n	%
Vagina	10	52,6
Ânus	02	10,5
Vagina + ânus	07	36,9
Total	19	100,0

24 anos, variando de 15 a 37 anos, a maioria (84,2%) casadas ou com união estável, com renda familiar até dois salários mínimos (84,2%). A maioria dessas mulheres colonizadas não exerciam atividade remunerada (68,4%) e apresentavam baixa escolaridade, com o ensino fundamental em 52,6% dos casos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características sociodemográficas das gestantes. Hospital das Clínicas, Uberlândia, 2011.

Variáveis	Colonização por EGB				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Idade materna (média/mínimo-máximo)	24	(15-37)	25	(15-40)	-
<20 anos	03	13,7	19	86,3	0,52
20-29 anos	13	21,7	47	78,3	
30 anos	03	11,5	23	88,5	
Estado civil					
Solteira	03	10,7	25	89,3	0,39
Casada/União estável	16	20,0	64	80,0	
Cor/Raça					
Branca	07	13,0	47	87,0	0,14
Negra	04	14,3	24	87,7	
Parda	08	30,8	18	69,2	
Escolaridade					
Ensino Fundamental	10	21,7	36	78,3	0,55
Ensino Médio	09	16,0	47	84,0	
Ensino Superior	-	-	06		
Renda da gestante (salários/mês)					
0	13	18,3	58	81,7	1,00
1-2	06	16,7	30	83,3	
3-5	-	-	01	-	
Renda familiar*					
1-2	16	21,3	59	78,7	0,17
3-5	03	09,1	30	90,9	
Total	19	100,0	89	100,0	

* Salário mensal

Quando às características clínicas 63,1% das gestantes colonizadas eram multigestas e 15,7% com histórico de aborto. Não houve diferença significativa (p>0,05), quanto às características avaliadas no grupo de mulheres colonizadas e não colonizadas pelo EGB (Tabela 3).

No total, foram isoladas 26 amostras identificadas como de EGB, destas 12,6% susceptíveis a ampicilina, penicilina, linezolida e vancomicina e 10,6%, resistentes a eritromicina e clindamicina.

Tabela 3 - Características clínicas das gestantes. Hospital das Clínicas, Uberlândia, 2011.

Variáveis	Colonização por EGB				p-valor
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Idade gestacional (média/mínimo-máximo)	37	(35-40)	37	(35-41)	-
35	01	06,7	14	93,3	0,42
36	02	16,7	10	83,3	
37	04	15,4	22	84,6	
38	04	25,0	12	75,0	
39	01	06,7	14	93,3	
40	07	29,2	17	70,8	
Número de gestações					
1	07	20,0	28	80,0	0,07
2	03	07,5	37	92,5	
3	06	35,3	11	64,7	
4	03	18,8	13	81,2	
Número de abortos					
0	16	19,8	65	80,2	0,81
1	02	10,0	18	90,0	
2	01	14,3	06	85,7	
Total	19	100,0	89	100,0	

Discussão

A importância da colonização em gestantes por EGB está associada ao maior risco de infecção neonatal precoce^{2,5,6,10}, que representa um grave problema para neonatologistas e obstetras devido a sua evolução rápida e prognóstico de óbito^{2,11}. O conhecimento da epidemiologia local auxilia no melhor direcionamento de estratégias de prevenção.

Nos Estados Unidos, cerca de 10 a 30% estão colonizadas^{2,6}. Apesar de o EGB ser o principal agente de sepse neonatal em países desenvolvidos, seu impacto é variável dependendo da região geográfica¹⁰. A dimensão global do problema é ainda mais difícil de ser estimada, sobretudo nos países em desenvolvimento^{4,7,12}. A colonização de gestantes nestes países, varia de 0 a 31%, com maior detecção quando do uso de métodos laboratoriais adequados. Independentemente da metodologia utilizada, as maiores frequências foram detectadas na África subsaariana (18%), Norte da África e Oriente Médio (17%), Américas (12%), Paquistão e Índia (9%), Ásia e Pacífico (8%)⁷.

Em comparação a outros estudos no país, os resultados deste estudo evidenciaram uma taxa de colonização superior à encontrada por Pellegrini¹³, em três maternidades em Salvador, Bahia (6,9%), e Linhares *et al.*,¹⁴ em Sobral, Ceará (4,2%); e semelhante aos resultados encontrados neste estudo, Beraldo *et al.*,¹⁵ em estudo realizado em Londrina (PR), encontraram uma taxa de 14,9% e Pogere *et al.*,¹⁶ no ambulatório de pré-natal do Hospital Universitário do Sul do Brasil, encontraram 21,6%, considerando apenas gestantes no terceiro trimestre de gestação. Entretanto, há estudos brasileiros que detectaram taxas de até 27,6%¹⁷⁻²¹.

A detecção de EGB depende de diversos fatores, mas a cultura de espécimes clínicos dos sítios vaginal e anorretal aumenta a positividade laboratorial entre 5 a 27%², e pode ser realizada com a utilização de um

único "swab". A detecção microbiológica implica na utilização de meios seletivos suplementado de antimicrobianos para inibição de microrganismos da microbiota que aumenta a sensibilidade em mais de 50%². Os resultados deste estudo evidenciaram um melhor rendimento quando da coleta a partir da mucosa vaginal (52,6%), assim como verificado em outras casuísticas^{15,17}, mas a não inclusão de espécime clínico coletado da mucosa anal, acarretaria uma diminuição de cerca de 10% de gestantes positivas. Em síntese, a coleta de apenas um sítio afeta o resultado da profilaxia antibiótica na prevenção de sepse neonatal precoce.

Estudos epidemiológicos revelam que a colonização por EGB é mais frequente em mulheres com baixos níveis sócioeconômico, menor escolaridade, idade inferior a 20 anos, primigestas, com elevado número de parceiros sexuais, negras e diabéticas^{2,15,16}.

Embora nenhuma das variáveis testadas neste estudo fossem associadas significativamente na análise estatística, verificou-se um predomínio das seguintes características: união estável (84,2%), multiparidade (61,3%), aborto prévio (15,7%). Entretanto, nenhuma destas variáveis tem o potencial de direcionar medidas profiláticas para um determinado grupo de gestantes com alta probabilidade de estarem colonizadas.

A penicilina é o antibiótico de escolha para o tratamento, em função de EGB apresentar susceptibilidade aos β -lactâmicos². Entretanto, a proporção de amostras com resistência "in vitro" a eritromicina e clindamicina aumentou nos últimos 20 anos, nos Estados Unidos, com uma prevalência de resistência variando de 25-32% e 13-20%, respectivamente², a exemplo do que ocorreu em outras regiões geográficas. Felizmente, ainda não foi constatado esse aumento no Brasil e outros países da América Latina²². A resistência a eritromicina é frequentemente associada à clindamicina, embora nem sempre ocorra esta associação².

No presente estudo as taxas de resistência a clindamicina e eritromicina das amostras foram semelhantes à observada em outros estudos no Brasil, como: Borger¹⁸, no Rio de Janeiro, RJ, apresentou taxa de 6,2% e 9,4% de resistência a clindamicina e eritromicina; Simões *et al.*,²³ na Universidade de Campinas, mostraram alta taxa de resistência à clindamicina (17,4%). Enquanto, Palmerio *et al.*,²² no HC da Universidade Federal do Paraná, analisando amostras de colonização e infecção, encontraram uma frequência de 4,2% a ambas drogas, inferior ao encontrado neste estudo.

A prevenção da sepse neonatal precoce é um objetivo de saúde pública¹¹, fornecendo benefícios maiores que os riscos conhecidos²⁰. Apesar da recomendação da triagem de todas gestantes como a principal estratégia para instituição de profilaxia², quando as culturas são indisponíveis, a avaliação dos fatores de risco se faz necessária para o melhor direcionamento da conduta profilática². Além da uma melhor definição da dimensão da doença ser urgentemente necessária no país, medidas que incluem: a existência de um sistema de vigilância epidemiológica, avaliação da colonização materna através de técnicas microbiológicas sensíveis e melhor uso profilático de antibióticos, são recomendados, e sobretudo o fortalecimento do sistema de saúde primária para a melhora das assistências materna e neonatal deve ser considerados.

Em síntese, na presente casuística a taxa de colonização por EGB em gestantes foi alta, com maior detecção deste microrganismo no sítio vaginal. O perfil epidemiológico evidenciou mulheres jovens, casadas/união estável e multigestas. As amostras de EGB apresentaram frequências baixas de resistência a clindamicina e eritromicina. Embora o melhor conhecimento epidemiológico da colonização materna por EGB requeira mais investigação, o direcionamento de medidas de prevenção e controle adequados para a realidade local é de grande importância, considerando

a taxa de colonização materna por EGB encontrada na instituição, fator de risco para a doença invasiva no recém-nascido.

Agradecimentos

Setores de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas de Uberlândia. Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas de Uberlândia. Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade Federal de Uberlândia.

Referências

- Baltimore RS. Consequences of prophylaxis for group B streptococcal infections of the neonate. *Semin Perinatol*, 2007; 31(1): 33-38.
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease-revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2010; 59(RR-10): 01-36.
- Schuchat, A. Group B streptococcal disease: from trials and tribulations to triumph and trepidation. *Clin Infect Dis*, 2001; 33(6): 751-756.
- Dagnew AF, Cunningham MC, Dube Q, Edwards MS, French N, Heyderman RS, *et al*. Variation in reported neonatal group B streptococcal disease incidence in developing countries. *Clin Infect Dis*, 2012; 55(1): 91-102.
- Verani JR, Schrag SJ. Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. *Clin Perinatol*, 2010; 37(2): 375-392.
- Puopolo KM. Epidemiology of neonatal Early-onset sepsis. *NeoReviews*, 2008; 9(12): 571-578.
- Stoll BJ, Schuchat A. Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. *Pediatr Infect Dis J*, 1998; 17(6): 499-403.
- Vergnano S, Embleton N, Collinson A, Menson E, Russell AB, Heath P. Missed opportunities for preventing group B streptococcus infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2010; 95(1): 72-73.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement. 2012; 32(3): M100-S22.
- Barcaite E, Bartusevicius A, Tameliene R, Kliucinskas M, Maleckiene L, Nadisauskiene R. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2008; 87(3): 260-271.
- Stan CM, Boulvain M, Bovier PA, Auckenthaler R, Berner M, Irion O. Choosing a strategy to prevent neonatal early-onset group B streptococcal sepsis: economic evaluation. *Br J Obstet Gynaecol*, 2001; 108(8): 840-847.
- Ganatra HA, Stoll BJ, Zaidi AK. International perspective on early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol*, 2010; 37(2): 501-523.
- Pelegri R. Frequency of colonization by *Streptococcus agalactiae* in pregnant women in the city of Salvador, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop*, 1999; 32(4): 451-452.
- Linhares JJ, Neto PGC, Vasconcelos JLM, Saraiva TV, Ribeiro AMF, Siqueira TM, *et al*. Prevalence of the colonization by *Streptococcus agalactiae* in pregnant women from a maternity in Ceará, Brazil, correlating with perinatal outcomes. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2011; 33(12): 395-400.
- Beraldo C, Brito ASJ, Saridakis HO, Matsuo T. Prevalence of vaginal and anorectal colonization by Group B *Streptococcus* in pregnant women in the last three months of gestation. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2004; 26(7): 543-549.
- Pogere A, Zoccoli CM, Tobouti NR, Freitas PF, d'Acamora AJ, Zunino JN. Prevalence of group B *Streptococcus* in pregnant women from a prenatal care center. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2005; 27(4): 174-180.
- Alves VMN, Simões JA. Prevalence of GBS genital colonization in pregnant women, risk factors associated with this colonization and phenotypic characteristics. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2005; 27(7): 435.
- Borger IL, d'Oliveira REC, de Castro ACD, de Góes P, de Mondino SSB. *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: prevalence of colonization and antimicrobial susceptibility evaluation. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2005; 27(10): 575-579.
- Benchetrit LC, Fracalanza SEL, Peregrino H, Camelo AA, Sanches LALR. Carriage of *Streptococcus agalactiae* in Women and Neonates and Distribution of Serological Types: a Study in Brazil. *J Clin Microbiol*, 1982; 15(4): 787-790.
- Costa ALR, Lamy Filho F, Chein MBC, Brito LMO, Lamy ZC. Prevalence of colonization by group B *Streptococcus* in pregnant women from a public maternity of Northwest region of Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2008; 30(6): 274-280.
- Nomura ML, Passini Júnior R, Oliveira UM, Calil R. Group B streptococcus maternal and neonatal colonization in preterm rupture of membranes and preterm labor. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2009; 31(8): 397-403.
- Palmeiro JK, Dalla-Costa LM, Fracalanza SEL, Botelho ACN, Nogueira KS, *et al*. Phenotypic and Genotypic Characterization of Group B *Streptococcus* Isolates in Southern Brazil. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(12): 4397-4303.
- Simoes JA, Alves VM, Fracalanza SE, de Camargo RP, Mathias L, Milanez HM, Brolazo EM. Phenotypical Characteristics of Group B *Streptococcus* in Parturients. *Braz J Infect Dis*, 2007; 11(2): 261-266.