

ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO E SOROLÓGICO DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADOS DE GESTANTES

Lincoln Luís Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Simone Cristina Castanho Sabaini de Melo, Sandra Marisa Pelloso, Rubia Andreia Falleiros de Pádua, Vera Lucia Dias Siqueira, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Regiane Bertin de Lima Scodro (Orientadora), e-mail: rblscodro@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Microbiologia – Microbiologia médica

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*, gestante, fenótipo.

Resumo:

Streptococcus agalactiae são cocos Gram positivos (Estreptococo do Grupo B/EGB), encontrado na microbiota vaginal e gastrointestinal em gestantes. A colonização por este microrganismo é assintomático em gestantes, todavia os recém-nascidos podem se contaminar durante o parto e, a partir disso, desenvolver quadros clínicos severos como meningite, septicemia e pneumonia. A identificação desse microrganismo é feita após o crescimento em meios de cultura, seguida por análise bioquímica (fenotípica) e por técnica sorológica, que são técnicas bastante utilizadas no laboratório de análises clínicas. Esta bactéria pode trazer grandes prejuízos ao hospedeiro e devido a sua variação fenotípica é fundamental que os métodos empregados sejam avaliados para determinar a eficácia na identificação do patógeno para que medidas profiláticas sejam adotadas precocemente. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi analisar o perfil bioquímico e sorológico que caracterizam o fenótipo da bactéria e identificam o EGB, a partir de amostras clínicas de gestantes atendidas na 18ª Regional de Saúde do Estado do Paraná. Ao todo foram obtidos 402 isolados de EGB em 147 (26,25 %) gestantes das 560 atendidas. Todos os isolados foram cocos Gram positivos, catalase negativa e sorologia positiva para EGB, porém as outras provas bioquímicas tiveram variação na frequência. A maioria foi bacitracina (90,3 %) e sulfazotrim (74,87 %) resistentes, hipurato positivo (99,0 %) e β -hemolítico (97,26 %). Nesse estudo verificamos que o EGB possui variações no fenótipo, especialmente a hemólise (gama hemólise). Neste caso, a triagem no pré-natal deve ser melhor analisada fenotipicamente para evitar um resultado equivocado.

Introdução

Streptococcus agalactiae (estreptococo β -hemolítico do grupo B/EGB) são bactérias frequentemente encontradas na microbiota da mulher,

colonizando o trato genital a partir do trato gastrointestinal e também, raramente, o urinário. Estima-se que de 15 a 40% das mulheres grávidas apresentam colônias no trato genital e cerca de 3% no reto; e provável que 50 a 75% dos recém-nascidos expostos a essa bactéria são colonizados ainda na vida intrauterina (pelo rompimento das membranas que protegem o conceito) ou depois do parto o qual caracteriza uma transmissão vertical (FUNÇÃO; NARCHI, 2013). Nos últimos anos, estudos apontam que a colonização materna pelo EGB é reconhecida como a causa mais frequente de infecção grave em recém-nascidos. Os neonatos contaminados por essa bactéria nas primeiras 24 horas de vida se destacam pelos altos índices de morbidade e mortalidade em decorrência da pneumonia, meningite e/ou septicemia (HOMER et al., 2014).

Em 1996, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) juntamente com a *American Academy of Pediatrics* (AAP) e o *American College of Obstetrics and Gynecology* (ACOG) publicaram estratégias preventivas contra doenças causadas por EGB que abrangia somente gestantes num grupo de risco. Em 2010, o CDC publicou novas diretrizes, substituindo aquelas de 1996 e 2002, e recomendando uma triagem pré-natal baseada na realização de culturas para colonização vaginal e retal de todas as mulheres grávidas com 35 a 37 semanas de gestação (CDC, 2010).

As duas formas de identificação (bioquímica e sorológica) para EGB são rotineiramente utilizadas no laboratório de análises clínicas, sendo a identificação bioquímica manual (após o crescimento em cultura), a metodologia mais utilizada devido à simplicidade da técnica, tempo e custo-benefício, mas devido a sua variação fenotípica da bactéria, é fundamental que os métodos bioquímicos e sorológicos sejam avaliados, pois são eles que auxiliam na identificação e podem indicar um diagnóstico correto. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi analisar o perfil bioquímico e sorológico de EGB, a partir de amostras clínicas de gestantes atendidas na 18ª Regional de Saúde do Estado do Paraná.

Materiais e métodos

População estudada

Foi realizado um estudo transversal, prospectivo, em gestantes com 35 a 37 semanas de gestação atendidas no serviço público de saúde dos municípios da 18ª Regional de Saúde do Estado do Paraná. As gestantes foram esclarecidas quanto à finalidade do estudo e, após concordarem em participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Este projeto faz parte de um projeto de pesquisa de doutorado (Simone Castanho-PCS), aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá, conforme parecer no 236/2011.

Coleta das amostras

As gestantes foram submetidas à coleta de quatro amostras de secreção para cultura: dois swabs anorretais e dois swabs vaginais, sem uso de espéculo, durante o período de março de 2011 a março de 2013. As amostras de secreção foram coletadas do reto e do terço distal da vagina utilizando-se swabs que foram a seguir inoculados separadamente em ágar sangue, meio HPTH (Hitchens–Pike–Todd–Hewitt) e Todd-Hewitt (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA), para cada amostra biológica. Após a inoculação nos caldos de enriquecimento (HPHT e Todd-Hewitt), foi acrescentado sangue de carneiro desfibrinado e incubado a 36 °C por 18 a 24 horas, após este período, os caldos foram repicados em ágar sangue e incubados novamente por 24 a 48 horas, rendendo três ágar sangue de cada material, sendo denominados ágar sangue vaginal, HPTH vaginal, Todd-Hewitt vaginal, ágar sangue retal, HPTH retal e Todd-Hewitt retal.

Identificação dos isolados clínicos

A identificação do EGB foi realizada pelo setor de Bacteriologia Médica do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina (DAB), da UEM. As colônias sugestivas de EGB, hemolíticas (beta hemólise) ou não (gama hemólise), foram submetidas à coloração de Gram, prova da catalase, hidrólise de hipurato, hidrólise da bile esculina, teste de sensibilidade a bacitracina (0,04U), teste de sensibilidade a sulfametoxazol-trimetoprima (1,25µg, Newprov, Curitiba, Paraná, Brasil) e ao teste de aglutinação para detecção do antígeno do grupo B utilizando o *Streptococcal Grouping Kit* (Oxoid, Hampshire, UK), de acordo com as recomendações do fabricante.

Resultados e Discussão

Foram atendidas 560 gestantes, das quais foram identificadas 402 colônias de *Streptococcus agalactiae* em 147 pacientes, o que significa uma prevalência de 26,25% na população estudada. Na tabela 1 é mostrada cada colônia isolada de sítios anatômicos diferentes em seus respectivos meios de cultura e os testes a que foram submetidas.

O perfil bioquímico de EGB comumente apresenta as seguintes provas bioquímicas: são cocos Gram positivos, maioria beta-hemolítico, porém já foram relatados isolados clínicos gama-hemolíticos. Não apresentam a enzima catalase, em sua maioria são bacitracina e sulfazotrim resistentes, são hipurato positivo e na sorologia para estreptococos a reação acontece para o grupo B de Lancefield. Neste estudo, todos os isolados identificados foram cocos Gram positivos, catalase negativa e sorologia positiva para EGB, porém as outras provas bioquímicas tiveram variação na frequência. A maioria foi bacitracina (90,3 %) e sulfazotrim (74,87 %) resistentes, hipurato positivo (99,0 %) e β -hemolítico (97,26 %).

Tabela 1. Perfil bioquímico e sorológico de *Streptococcus agalactiae* isolados da região vaginal e anorretal de gestantes

Meio de cultura	n	β	δ	Cat (-)	Bac R	SUT R	SUT S	Hip (+)	Sorol B
ASV	80	80	0	80	73	59	21	80	80
HPTHV	94	88	6	94	86	69	25	93	94
TODDV	58	57	1	58	53	41	17	57	58
ASR	82	81	1	82	73	68	14	80	82
HPTHR	73	71	2	73	66	53	20	73	73
TODDR	15	14	1	15	12	10	5	15	15
TOTAL	402	391	11	402	363	300	102	398	402
(%)	100	97,26	2,74	100	90,3	74,7	25,3	99,0	100

ASV: ágar sangue vaginal; HPTHV: HPTH vaginal; TODDV: TODD vaginal; ASR: ágar sangue retal; HPTHR: HPTH retal; TODDR: Todd retal; n: n° de isolados β : beta-hemólise; δ : gama-hemólise; cat (-): catalase negativa; Bac R: bacitracina resistente; BacS: bacitracina sensível; SUT R: sulfazotrim resistente; SUT S: sulfazotrim sensível; Hip (+): hipurato positivo; Hip (-): hipurato negativo; Sorol B: Sorologia para grupo B de Lancefield;

Conclusões

Neste estudo identificamos algumas variações no fenótipo desse microrganismo, neste sentido, as identificações devem ser feitas cuidadosamente interpretadas, apoiando-se de provas mais específicas como a molecular, quando possível. Verificou-se a importância em procurar bactérias δ -hemolíticas na rotina, pois esta foi encontrada em 11 pacientes. Apesar de pouco frequente, os EGB δ -hemolíticos não devem ser negligenciados, devido à relevância e importância deste exame em uma gestante e para o recém-nascido.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq, Fundação Araucária e a Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade e apoio.

Referências

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION et al. Guidelines for the prevention of perinatal group B streptococcal disease. **Morb Mortal Wkly Rep**, v. 59, p. 1-32, 2010.

FUNÇÃO, J. M.; NARCHI, N. Z. Pesquisa do estreptococo do Grupo B em. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 47, n.1, p. 22-29, 2013.

HOMER, C. S. E. et al. Culture-based versus risk-based screening for the prevention of group B streptococcal disease in newborns: A review of national guidelines. **Women and Birth**, v. 27, n. 1, p. 46-51, 2014.