



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Ciências Médicas**

**Bruna Alves da Silva Pimentel**

**Análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de estreptococos do grupo b isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto nacional do câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014**

**Rio de Janeiro**

**2016**

Bruna Alves da Silva Pimentel

**Análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de estreptococos do grupo b isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto nacional do câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Prescilla Emy Nagao Ferreira  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Luiza da Mattos Guaraldi

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

P644 Pimentel, Bruna Alves da Silva.

Análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de Estreptococos do Grupo B isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto Nacional do Câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014 / Bruna Alves da Silva Pimentel. – 2016.

64 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Prescilla Emy Nagao Ferreira

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Luiza de Mattos Guaraldi

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. *Streptococcus agalactiae* - Teses. 2. Infecção- Teses. 3. Câncer – Pacientes - Teses. 4. Estreptococos – Teses. I. Ferreira, Prescilla Emy Nagao. II. Guaraldi, Ana Luiza de Mattos. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 576.851.214

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira  
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Bruna Alves da Silva Pimentel

**Análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de estreptococos do grupo b isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto nacional do câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Aprovada em 28 de novembro de 2016.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra Prescilla Emy Nagao Ferreira  
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra Ana Luiza de Mattos Guaraldi  
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Raphael Hirata Júnior  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Gabriela Santos Jonathan  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ  
\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Helena Simões Villas Bôas  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2016

## DEDICATÓRIA

Ó profundidade das riquezas, tanto da sabedoria, como da ciência de Deus! Quão insondáveis são os seus juízos, e quão inescrutáveis os seus caminhos! Por que quem compreendeu a mente do Senhor? ou quem foi seu conselheiro? Ou quem lhe deu primeiro a ele, para que lhe seja recompensado? Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente. Amém.

*Romanos 11:33-36*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao autor e consumidor da minha Fé, *“Senhor Deus, o Todo-Poderoso, que era, e que é, e que há de vir”*. (Apocalipse 4:8)

Sem a permissão dele nada aconteceria, meus sonhos não teriam sentido, pois antes de tudo eles nasceram no coração do meu Deus. Eu tudo a ele consagro por ter me sustentado até aqui, me erguido em momentos difíceis e me impulsionado na direção correta, enviando pessoas que pudessem me ajudar e me orientar, para que meu crescimento acontecesse em todos os aspectos, quer sejam profissionais quanto pessoais. Obrigada meu Senhor, pois minhas forças nascem de ti, minha confiança e esperança estão postas em ti! Graças a ele para sempre por TUDO! *“Em tudo dai graças, porque esta é a vontade de Deus em Cristo Jesus para convosco”*. (1 Tessalonicenses 5:18)

A todos que me ajudaram de alguma maneira, com uma palavra, um gesto, uma correção, seja ela dolorida ou não. Tudo era necessário. A minha mãe Ângela e meu pai Sérgio que conceberam e de alguma maneira foram instrumentos de Deus na minha vida. Obrigada pelo apoio quer seja emocional ou financeiro. Sei que me amam de verdade e posso sentir isso no meu coração. Obrigada por que vocês foram fundamentais na formação da minha história de vida. Sinto que tenho um pouco dos dois dentro de mim. Amo vocês.

A todos os amigos (as) que estiveram do meu lado, torcendo, orando para que tudo desse certo, amo vocês! Vocês foram peças fundamentais utilizadas pelo Senhor para estarem do meu lado.

A professora e também considerada amiga Prescilla que acreditava mais em mim do que eu mesma poderia acreditar, obrigada por ser boca de Deus na minha vida e dizer tudo que eu precisava ouvir nos momentos certos. Por dizer: - Você consegue, tenta de novo!! Até você conseguir!!! MUITO OBRIGADA!! Pois muitas vezes não parei por sua causa! Você tem sido fundamental em minha formação, não só profissional, mas em caráter, forma de agir e de se portar muitas das vezes. Obrigada do fundo do meu coração, que Deus continue sendo contigo, fortalecendo sua Fé, sua família e todos ao teu redor! Você é uma benção!!!

As LBMFEs que me ensinaram muito também. E principalmente me ensinaram a viver em equipe. Ensinando-me a dividir... A trabalhar junto... A entender que ninguém é igual, porém cada uma é especial de maneira distinta e particular. Obrigada a todas, Deus seja com todas vocês e suas respectivas famílias.

Ao Ministério Promessa de Deus que foi uma benção de Deus na minha vida, lugar de renovo e fortalecimento. Em especial Pastora Marcia Franco que torceu, orou, vibrou, chorou, profetizou a cada passo dado. Deus continue honrando todo o Ministério e dando o crescimento conforme a vontade dele!

A CAPES, pelo auxílio financeiro concedido.

Aos professores, coordenadores e funcionários do programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da UERJ pela oportunidade e transmissão de conhecimentos ao longo desses anos. A todos que por algum motivo eu não citei, mas que de alguma forma colaboraram para meu crescimento profissional, pessoal e emocional.

O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.

*Albert Einstein*



## RESUMO

PIMENTEL, Bruna Alves da Silva. **Análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de Estreptococos do Grupo B isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto Nacional do Câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014.** 2016. 64f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016).

Embora a maior carga de infecções por *Streptococcus agalactiae* tenham sido relatadas em países industrializados, os estudos sobre a caracterização e epidemiologia são limitados nos países em desenvolvimento, onde a implementação de estratégias de controle permanece indefinida. O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e microbiológicos de infecções por *S. agalactiae* em pacientes com câncer atendidos no Instituto Nacional de Referência Nacional do Câncer - INCA, Rio de Janeiro, Brasil. Foram revistos os registros clínicos e laboratoriais de todos os pacientes com câncer identificados com doenças invasivas causadas por *S. agalactiae* durante 2010-2014. Os isolados foram identificados por análises bioquímicas e testados para a susceptibilidade antimicrobiana. Um total de 263 cepas de *S. agalactiae* foram isolados de pacientes com câncer que tinham sido clinicamente e microbiologicamente classificadas como infectadas. Infecções por *S. agalactiae* foram geralmente detectados entre os adultos com tumores sólidos (94%) e / ou em pacientes que usaram dispositivos médicos de demora (77,2%) ou submetidos a procedimentos cirúrgicos (71,5%). As taxas de mortalidade (mortalidade intra-hospitalar durante 30 dias após a identificação de *S. agalactiae*) relacionados a infecções por *S. agalactiae* invasivos (n = 28; 31,1%) para a categoria específica de doenças neoplásicas foram: gastrointestinal (46%), cabeça e pescoço (25%), pulmão (11%), hematológica (11%), ginecológico (4%), e genito-urinário (3%). Encontramos também um aumento na resistência do *S. agalactiae* à eritromicina e clindamicina e o surgimento de isolados penicilina menos susceptíveis. Um notável número de casos de infecções invasivas por cepas de *S. agalactiae* foram identificados, principalmente em doentes adultos. Nossos resultados reforçam a necessidade de medidas de controle de *S. agalactiae* no Brasil, incluindo pacientes com câncer.

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*. Infecções. Pacientes com câncer.

## ABSTRACT

PIMENTEL, Bruna Alves da Silva. **Analysis of microbiological and epidemiological aspects of streptococci Group B samples isolated from patients with cancer treated at the National Cancer Institute (HCI-RJ) during the period 2010-2014.** 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016

Although the highest burden of *Streptococcus agalactiae* infections has been reported in industrialized countries, studies on the characterization and epidemiology are still limited in developing countries and implementation of control strategies remains undefined. The aim of this retrospective study was to assess the epidemiological, clinical, and microbiological aspects of *S. agalactiae* infections in cancer patients treated at a Reference Brazilian National Cancer Institute - INCA, Rio de Janeiro, Brazil. We reviewed the clinical and laboratory records of all cancer patients identified as having invasive *S. agalactiae* disease during 2010–2014. The isolates were identified by biochemical analysis and tested for antimicrobial susceptibility. A total of 263 strains of *S. agalactiae* were isolated from cancer patients who had been clinically and microbiologically classified as infected. *S. agalactiae* infections were mostly detected among adults with solid tumors (94 %) and/or patients who have used indwelling medical devices (77.2 %) or submitted to surgical procedures (71.5 %). Mortality rates (in-hospital mortality during 30 days after the identification of *S. agalactiae*) related to invasive *S. agalactiae* infections (n= 28; 31.1 %) for the specific category of neoplastic diseases were: gastrointestinal (46 %), head and neck (25 %), lung (11 %), hematologic (11 %), gynecologic (4 %), and genitourinary (3 %). We also found an increase in *S. agalactiae* resistance to erythromycin and clindamycin and the emergence of penicillin-less susceptible isolates. A remarkable number of cases of invasive infections due to *S. agalactiae* strains was identified, mostly in adult patients. Our findings reinforce the need for *S. agalactiae* control measures in Brazil, including cancer patients.

Keywords: *Streptococcus agalactiae* . Infections. Cancer patients.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Incidência de doenças invasivas causadas por <i>S.agalactiae</i> em pacientes com câncer.....	36
Figura 2 –	<i>S. agalactiae</i> com susceptibilidade reduzida à penicilina em pacientes com câncer durante 2010-2014.....	39
Figura 3 –	Número de pacientes (%) com desordens neoplásicas apresentando fatores de risco por infecções causadas por <i>S. agalactiae</i> .....	40
Figura 4 –	Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de <i>S. agalactiae</i> obtidas de pacientes do INCA-HCI após 24 de incubação.....	42
Figura 5 –	Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de <i>S. agalactiae</i> obtidas de pacientes do INCA-HCI após 48 de incubação.....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características dos pacientes do Hospital de Referência - INCA.....	32
Tabela 2 –	Amostras de <i>S. agalactiae</i> isoladas de pacientes no INCA durante o período de 2013-2014.....	33
Tabela 3 –	Tratamento dos 263 pacientes infectados com <i>S. agalactiae</i> durante o período de 2010-2014 .....	34
Tabela 4 –	Número e origem de amostras de <i>S. agalactiae</i> durante o período de 2010-2014 .....	37
Tabela 5 -	Proporção de casos de mortalidade.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CAMP	Técnica para confirmação laboratorial do <i>S. agalactiae</i> (Siglas correspondem as iniciais do pesquisador)
CIR	Taxa de incidência cumulativa
CMCIV/INCA	Comissão Mista de Controle de Infecção e Vigilância do INCA
CMI	Concentração Mínima Inibitória
DO	Densidade ótica
HCI	Hospital do Câncer unidade 1
HCII	Hospital do Câncer unidade 2
HCII	Hospital do Câncer unidade 3
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LCR	Líquido cefalorraquidiano
pH	Escala para medida do potencial hidrogeniônico que indica a acidez ou basicidade de uma solução aquosa.
RNA	Ácido ribonucleico
<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
THB	Caldo de vaca ( <i>Todd-Hewitt broth</i> )
UFC/mL	Unidades formadoras de colônias

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1	<b>OBJETIVOS</b> .....	25
1.1	<b>Geral</b> .....	25
1.2	<b>Específicos</b> .....	25
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
2.1	<b>Cenário de Estudo e Pacientes envolvidos</b> .....	26
2.2	<b>Amostras clínicas de <i>Streptococcus agalactiae</i>: definições de infecções</b> .....	26
2.3	<b>Amostras de <i>S. agalactiae</i></b> .....	27
2.4	<b>Identificação bacteriana</b> .....	27
2.5	<b>Coloração de Gram</b> .....	28
2.6	<b>Fator CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen)</b> .....	28
2.7	<b>Identificação das amostras por sorologia</b> .....	28
2.8	<b>Teste de sensibilidade das amostras de <i>S. agalactiae</i> aos agentes antimicrobianos através do método de disco-difusão</b> .....	29
2.9	<b>Formação de biofilme em microplacas de poliestireno</b> .....	29
3	<b>RESULTADOS</b> .....	31
3.1	<b>Infecções por <i>S. agalactiae</i> em pacientes com câncer</b> .....	31
3.2	<b>Identificação das amostras de <i>S. agalactiae</i></b> .....	32
3.3	<b>Tratamento dos pacientes infectados por <i>S. agalactiae</i></b> .....	34
3.4	<b>Incidência de infecções invasivas por <i>S. agalactiae</i> em adultos oncológicos</b> ...	35
3.5	<b>Locais de isolamento de <i>S. agalactiae</i> e mortalidade em pacientes oncológicos</b> .....	37
3.6	<b>Susceptibilidade reduzida à penicilina</b> .....	38
3.7	<b>Principais tipos de tumores e infecções por <i>S. agalactiae</i></b> .....	39
3.8	<b>Análise da formação de biofilme</b> .....	41
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	44
	<b>CONCLUSÕES</b> .....	48
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	49
	<b>ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética</b> .....	57
	<b>ANEXO B - Artigo Publicado</b> .....	59

## INTRODUÇÃO

Pacientes com câncer apresentam fatores de risco para infecção que são influenciados pelo grau da imunossupressão, pela agressividade da doença de base bem como pela toxicidade do tratamento antineoplásico instituído. Atualmente, o tratamento do câncer é um procedimento complexo que se baseia em cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia biológica ou como frequentemente ocorre, a combinação delas. O objetivo do tratamento oncológico pode ser a erradicação do câncer, o tratamento paliativo, o alívio dos sintomas ou a preservação da qualidade de vida. Normalmente, há vários fatores predisponentes à infecção associados ao paciente, à doença de base e ao tratamento oncológico, aumentando o espectro dos prováveis agentes patogênicos (Gaynes *et al.*, 2002; Klastersky *et al.*, 2004; Rolston *et al.*, 2007).

Doenças neoplásicas graves, acompanhadas de neutropenias profundas e prolongadas, desnutrição grave, procedimentos invasivos e longas internações, podem favorecer a colonização e/ou infecção por microrganismos considerados como de baixo potencial de virulência, usualmente resistentes aos esquemas da terapia antimicrobiana e com alta morbidade. A vigilância clínica microbiológica deve ser intensificada quando tais organismos, considerados como contaminantes ambientais são isolados de pacientes em unidades de oncohematologia (Riegel *et al.*, 1998; Camello *et al.*, 2003; Meyer & Reboli *et al.*, 2009).

Regimes de quimioterapia intensiva, administração empírica de antibióticos, utilização de cateteres, aumento do uso de imunomoduladores e o tratamento ambulatorial alteram a epidemiologia das infecções em pacientes com câncer. Devido a isso, têm aumentado as infecções por bactérias Gram-positivas nos últimos anos (Zinner *et al.*, 1999; Gaynes *et al.*, 2002; Bassetti *et al.*, 2013), demonstrando que a identificação correta do organismo e a administração adequada de antimicrobianos são importantes para eliminação de surtos ou busca por reservatórios humanos e ambientais (Oteo *et al.*, 2001; Rizvi *et al.*, 2011).

Os processos infecciosos têm um importante impacto no curso clínico e na evolução dos pacientes com câncer, sendo responsáveis pelo agravamento das condições clínicas, pelo aumento do período de internação hospitalar do paciente e pela elevação dos custos hospitalares. Essas infecções seguem com significativa mortalidade, além daquela já induzida pela doença de base. Procedimentos empregados durante o tratamento podem induzir à disfunção da imunidade inata e adaptativa, assim como, disfunção local e sistêmica (Pittet *et al.*, 1994; Gonzalez-Barca *et al.*, 1996).

A incidência das infecções é variável de acordo com as características da população atendida e da alta complexidade dos tratamentos oferecidos pelo hospital que necessitam de internações mais prolongadas. O risco relativo de bacteremias nos diversos setores hospitalares é variável (Pittet *et al.*, 1997). A Organização Europeia para pesquisa e tratamento de câncer enfatiza a falta de vigilância e controle atual de patógenos de importância epidemiológica (Yadegarynia *et al.*, 2013). Segundo o código europeu contra o câncer, as doenças oncológicas são de importância para a saúde pública, onde mais da metade das pessoas que desenvolvem câncer morrem devido à doença. Assim, o conceito de 'controle do câncer' foi desenvolvido para atacar o câncer, tendo como objetivo geral a redução do sofrimento relacionado à doença (Armaroli *et al.*, 2015).

Apesar dos avanços em ciência médica no tratamento de pacientes oncológicos, as infecções permanecem como principal causa de morbidade e mortalidade. O constante fator de risco associado à aquisição de infecções é o uso de cateteres centrais de longa permanência, mucosite por agentes citotóxicos, neutropenia e transplantes celulares (Bhat *et al.*, 2016).

A utilização crescente de quimioterapia citotóxica em pacientes com neoplasias hematológicas e tumores sólidos aumentou o número de pacientes neutropênicos. A quimioterapia rompe as barreiras de pele e mucosas. Além disso, a exposição à patógenos é aumentada em pacientes que utilizam cateteres e sondas, tornando esses pacientes propensos a infecções. Tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas são responsáveis por infecções em pacientes com neutropenia, agravando o quadro do paciente (Yadegarnia *et al.*, 2013).

*Streptococcus agalactiae* é um microrganismo geralmente associado a infecções em recém-nascidos, idosos e adultos imunocomprometidos, colonizando os tratos gastrointestinal e genital de adultos saudáveis (Schuchat *et al.*, 1998; Hansen *et al.*, 2004). Ao longo das últimas décadas, o *S. agalactiae* tem sido freqüentemente relatado em infecções invasivas em adultos (Valls-Pascual *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2012). Contudo, até a presente data, nenhum trabalho tem sido relatado com *S. agalactiae* em indivíduos portadores de câncer.



### ***Streptococcus agalactiae***

*Streptococcus agalactiae* são bactérias da família *Streptococcaceae*, sendo conhecidos também como Estreptococos do grupo B. O *S. agalactiae* é uma bactéria encapsulada,  $\alpha$ -hemolítica, Gram-positiva, anaeróbica facultativa, catalase e oxidase negativa, hipurato e CAMP positivos e anaeróbios facultativos encontrados na microbiota anfibiônica bucal, reto/vaginal e gastrointestinal humana (Nizet *et al.*, 2002).

São caracterizados pela presença do antígeno do grupo B de Lancefield, constituído por resíduos de ramnose e N- acetilglicosamina (Lancefield *et al.*, 1933). O *S. agalactiae* foi reconhecido em 1970 como agente etiológico da mastite bovina, sendo posteriormente, reconhecido como causador de quadros clínicos leves (infecção vaginal e urinária) até infecções graves como meningite, pneumonia, meningoencefalite em neonatos e em adultos imunocomprometidos (Schuchat *et al.*, 1999; Farley *et al.*, 2001).

Foram descritos dez sorotipos capsulares (Ia, Ib, II-IX) distintos de acordo com o polissacarídeo específico presente na cápsula polissacarídica, constituído por polímeros de glicose, galactose, ramnose, N-acetilglicosamina e ácido siálico (Slotved *et al.*, 2007). Os sorotipos associados a doenças em humanos e animais são os tipos Ia, Ib, II, III, IV e V (Martinez *et al.*, 2000; Gherardi *et al.*, 2007, Van der Mee-Marquet *et al.*, 2009). O sorortipo III é responsável por 30-70% dos casos de sepse e meningite neonatal, enquanto os sorotipos Ia, Ib, III, IV e V em infecções em idosos e adultos imunocomprometidos (Fiolo *et al.*, 2012; Ho *et al.*, 2013).

Durante a gravidez, muitos neonatos, particularmente os prematuros, nascidos de mães colonizadas pelos *S. agalactiae* são infectados ainda no útero (Yancey *et al.*, 1994). Estudos realizados demonstraram que aproximadamente 20-30% das mulheres apresentaram colonização por *S. agalactiae* na vagina e/ou reto e 50-70% das crianças nascidas destas mulheres tornaram-se colonizadas pelo microrganismo (Baker & Edwards *et al.*, 2001). Estima-se que, dos neonatos colonizados, 1-2% desenvolveram doenças invasivas (Eren *et al.*, 2005). Dados realizados na África do Sul confirmaram esta estatística, demonstrando que 52,4% dos neonatos nascidos de mulheres portadoras de *S. agalactiae* apresentaram colonização pelo patógeno (Madzivhandila *et al.*, 2011). Durante os anos de 2012 e 2013, no Brasil (Salvador-BH), a incidência de infecção por *S. agalactiae* foi de 0,63 por 1000 nascidos vivos (Evangelista *et al.*, 2015). A sepse neonatal foi eficientemente controlada nos Estados Unidos, como resultado da profilaxia, com a redução de 1,7 a cada 1000 nascidos nos anos 1990 para, aproximadamente, 0,37 a cada 1000 nascidos nos últimos anos (Verani, *et al.*

2010), já no Reino Unido a taxa de bacteremia em neonatos com mais de 90 dias de idade foi de 0,64 a cada 1000 nascidos vivos em 2009 (HPA *et al.*, 2010).

A prevalência dos sorotipos varia de acordo com a região e origem étnica. No Japão por exemplo, os sorotipos mais comuns são os VI e VIII com 60,3% dos casos; na Austrália, Europa e Estados Unidos 80-90% dos isolados clínicos são dos sorotipos Ia, II, III e V, enquanto na Gâmbia e em outros países do continente Africano o sorotipo V tem uma maior ocorrência (Kong *et al.*, 2008; Doare & Heath *et al.*, 2013).

No Brasil, os casos mais frequentes de infecções por *S. agalactiae* foram causados pelos sorotipos Ia, Ib, II e III, relacionados com infecções em neonatos ou adultos. Na região Centro-Oeste houve prevalência do sorotipo Ia; na região Sul dos sorotipos Ia e II; Norte e Nordeste prevaleceu o sorotipo Ib e no Sudeste os sorotipos II, III e V (Corrêa *et al.*, 2011; Fiolo *et al.*, 2012 ; Soares *et al.*, 2013; Dutra *et al.*, 2014).

O contato sexual parece não influenciar significativamente na aquisição do *S. agalactiae*, sendo a transmissão vertical seu principal meio de transferência (Honig *et al.*, 2002). Atualmente, ocupam o terceiro lugar entre os patógenos causadores de meningites bacterianas em neonatos, apresentando danos neurológicos permanentes em 50% dos sobreviventes (Iijima *et al.*, 2007). Duas formas clínicas da infecção neonatal por *S. agalactiae* foram descritas: a de início precoce e de início tardio. Cerca de 80% das infecções são de início precoce e iniciam entre as 6h-8h de vida. Para crianças nascidas entre a 37a e 42a semanas de gestação a taxa de mortalidade é de 5% e para prematuros a taxa de mortalidade sobe para 25%. Suas principais manifestações clínicas são sepse e pneumonia severa (Radetsky *et al.*, 1994; Adriaanse *et al.*, 1996; Spelleberg *et al.*, 2000; Gibbs *et al.*, 2004).

A infecção denominada tardia acontece entre a primeira semana e os três primeiros meses de vida. A forma de contaminação ainda não está totalmente estabelecida. Pode ocorrer por transmissão vertical (da mãe para o filho) através da colonização intestinal precoce por *S. agalactiae* nos recém-natos, com proliferação intraluminal e posterior translocação bacteriana através do epitélio intestinal, podendo se espalhar pela corrente sanguínea. Os principais fatores de risco associados a uma maior incidência da infecção tardia são neonatos prematuros, recém-nascidos de raça negra, mães portadoras e uso de antibióticos na profilaxia intraparto. O sorotipo III é o principal responsável pela maioria das infecções tardias que são manifestadas, em sua maioria, por meningite e sepse (Schrag *et al.*, 2000; Zaleznik *et al.*, 2000 ; Presentation, *et al.*, 2002; Verani *et al.*, 2010; Bodaszewska-Lubas *et al.*, 2013; Escolano *et al.*, 2014).

Estudos mostram que *S. agalactiae* vem emergindo como importante causador de infecções invasivas em idosos, pessoas da raça negra e pacientes imunodeprimidos (Blancas *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2006; Batalis *et al.*, 2007; Skoff *et al.*, 2009). As doenças mais frequentes são: infecções de pele e/ou de tecido mole, bacteremia sem foco, pneumonia e osteomielite. Síndromes clínicas severas como, meningite, choque séptico e endocardite são raras, mas geralmente associadas à morbidade e mortalidade. As taxas de casos fatais são muito maiores entre adultos do que entre neonatos (Farley *et al.* 1993; Huang *et al.* 2006). A prevalência de infecção é variável, dependendo da região, idade e co-morbidade do paciente (Yu *et al.*, 2011; Lanotte *et al.*, 2013).

Estudo realizado em São Paulo com homem de meia-idade diagnosticado com hipertensão, diabetes *mellitus* e cirrose hepática alcoólica que foi a óbito dentro de 24 horas da hospitalização, demonstrou isolamento de *S. agalactiae* no líquido cefalorraquidiano (LCR), sangue e urina. Autópsia revelou meningoencefalite, infarto agudo do miocárdio e pielonefrite por embolia séptica. Os autores apontaram os achados atípicos, bem como a importância de incluir este patógeno entre as possibilidades etiológicas de infecções invasivas nesse grupo de pacientes (Batista *et al.*, 2015). No Japão, num total de 443 isolados de *S. agalactiae* obtidos de adultos apresentando infecções invasivas entre abril de 2010 e março de 2013, 10,2 % foram a óbito (Morozumi *et al.*, 2016). Na Islândia, a incidência de infecções invasivas causadas por *S. agalactiae* em adultos entre 1975-2014, mostrou casos de doenças invasivas causadas por amostras bacterianas pertencentes ao clone hipervirulento ST7 (Björnsdóttir *et al.*, 2015).

A penicilina ou ampicilina são os antibióticos de primeira escolha para o tratamento contra infecções causadas por *S. agalactiae*. A penicilina G é um  $\beta$ -lactâmico que inibe a enzima transpeptidase e a formação de ligação cruzada entre cadeias de peptidoglicano, impedindo assim, a formação correta da parede celular bacteriana. Clindamicina e eritromicina são recomendados em pacientes alérgicos a penicilina ou quando há suspeita de falha no tratamento (CDC *et al.*, 2010). A eritromicina é um macrolídeo caracterizado pela presença de um anel macrocíclico de lactonas que atua ligando-se ao RNA ribossomal 23S da subunidade 50S, interferindo na elongação da cadeia peptídica durante a tradução e bloqueando a biossíntese de proteínas bacterianas (Guimarães *et al.*, 2010). A clindamicina é uma licosamida, cujo mecanismo de ação é semelhante ao dos macrolídeos (Guimarães *et al.*, 2010).

O aumento nas taxas de resistência a clindamicina e eritromicina tem sido detectado em diversas regiões do mundo, incluindo Europa, Ásia e América (Dutra, *et al.* 2014).

Estudos recentes relataram resistência a eritromicina em diversos países. No Brasil, 26,9% das amostras analisadas de origem humana e 3,6% de origem bovina apresentaram resistência a eritromicina (Duarte *et al.*, 2005); no Iran 32,2% dos isolados de mastite bovina apresentaram resistência a eritromicina (Ebrahimi *et al.*, 2013), no Kuwait 12,6% dos isolados de mulheres lactantes (Boswihi *et al.*, 2012) e na França 40% das amostras isoladas de vagina (Bergal *et al.*, 2015).

O *S. agalactiae* é sensível à penicilina, porém na última década têm sido observados casos isolados de redução da susceptibilidade à penicilina, ocasionando um aumento da concentração mínima inibitória (CMI), tornando importante o monitoramento da CMI nas amostras isoladas de espécimes clínicos diversos (Kimura *et al.*, 2008; Dutra *et al.*, 2014).

### **Infecções por *S. agalactiae* em pacientes imunocomprometidos**

A infecção bacteriana tem sido a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes com câncer. As infecções da corrente sanguínea adquiridas em hospitais são responsáveis por mais de 200.000 pacientes por ano nos Estados Unidos. Estas infecções estão associadas com a utilização de cateteres, sendo responsáveis por até 14% de todas as infecções hospitalares, aumentando o período de hospitalização e a morte do paciente (Cornejo-Juárez *et al.*; 2016). Infecções da corrente sanguínea estão diretamente associadas com o prolongado período de internação, altos custos de cuidados de saúde e aumento do risco de morbidade e mortalidade (Montassier *et al.*, 2013).

A incidência de infecção invasiva causada por *S. agalactiae* tem aumentado entre os adultos, onde mais da metade dos casos foram detectados em culturas de sangue de idosos (Edwards *et al.*, 2005). Casos de endocardite infecciosa por *S. agalactiae* são considerados agressivos com maior número de mortalidade se comparados a outros estreptococos (Rie *et al.*, 2015). O *S. agalactiae* tornou-se uma preocupação mundial entre adultos, especialmente em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DT2), doença neurológica, insuficiência renal, neoplasias malignas, cirrose, infecção pelo HIV ou aqueles submetidos a cateter intravenoso. Dentre estas populações, o *S. agalactiae* provoca uma doença de amplo espectro caracterizada por várias infecções invasivas, incluindo bacteremia sem foco, infecções osteo-articulares, pneumonia, urosepsia, endocardite, peritonite, meningite e empiema, síndrome de choque tóxico estreptocócico (STSS) (Farley *et al.*, 2001; Camuset *et al.*, 2015). A taxa de incidência cumulativa (CIR) da doença por *S. agalacitae* geralmente varia entre 2,4 e 9,2 casos por 100.000 adultos (Schwartz *et al.*, 1991; Farley *et al.*, 1993) e a maioria das publicações vem de áreas não tropicais (Farley *et al.*, 2001).

Estudo realizado na Colômbia durante 17 anos identificou que as infecções por *S. agalactiae* dos tecidos moles prevaleceram em adultos não gestantes (71,4%, 25/35), onde apenas 28,6% dos isolados invasivos foram recuperados a partir de sangue ou fluidos estéreis. A incidência estimada dessas infecções invasivas em adultos foi de 0,79 por 1000 admissões e demonstrou aumento de infecções na corrente sanguínea e no trato urinário (Crespo-Ortiz *et al.*, 2014).

Poucos são os relatos de complicações causadas por infecções invasivas pelo *S. agalactiae* em adultos portadores de câncer. Desta forma, pesquisas envolvendo pacientes oncológicos e a identificação de *S. agalactiae* são relevantes.

### **Mecanismos de Virulência de *S. agalactiae***

Uma grande diversidade de mecanismos utilizados pelos *S. agalactiae* contribui para patogenicidade e virulência, tornando-o capaz de causar doenças invasivas principalmente em neonatos, pacientes com idade avançada e portadores de doenças crônicas (Farley *et al.*, 2001). Esses fatores de virulência favorecem a sobrevivência e a colonização bacteriana, estabelecendo um nicho adequado para que o microrganismo possa se replicar, disseminar e evadir às defesas do hospedeiro (Schuchat *et al.*, 1999).

O avanço de técnicas moleculares e o refinamento de modelos *in vivo* e *in vitro* tem elucidado elementos chaves no processo de patogênese dessa bactéria (Doran & Nizet *et al.*, 2002; Herbert *et al.*, 2004). A virulência deste microrganismo se apresenta de forma complexa e multifatorial, sendo principalmente relacionada aos processos de aderência e invasão ao hospedeiro, além da evasão do sistema imune. Componentes da superfície bacteriana como, por exemplo, a cápsula polissacarídica e proteínas (C $\alpha$ , C $\beta$ , Rib e proteína de ligação a laminina – Lmb), além de inúmeras enzimas como a C5a peptidase e citolisinas/toxinas são produzidas e vem sendo associadas como fatores de virulência do *S. agalactiae* (Maisey *et al.*, 2008; Dutra *et al.*, 2014).

A aderência de bactérias patogênicas às células hospedeiras é um passo crucial para o estabelecimento da infecção (Schubert *et al.*, 2002; Jacobsson, *et al.*, 2003). A prevalência de infecções causadas por *S. agalactiae* pode estar associada a sua capacidade de formação de biofilme. Cerca de 80% das infecções ocorridas no mundo estão relacionadas à formação de biofilme (National Institutes Health *et al.*, 2002).

O biofilme é definido como uma comunidade de microrganismos ligados em superfícies bióticas ou abióticas, encapsulados em uma matriz extracelular constituída por exopolissacáridos, proteínas e ácidos nucléicos. A capacidade de produção de biofilme por bactérias é variável, podendo ser influenciada em resposta a fatores do meio ambiente, tais como meio de crescimento, temperatura, pH e osmolaridade (Ho *et al.*, 2013).

As bactérias ao entrarem em contato com o organismo hospedeiro aderem-se às células, produzem substâncias mucóides em sua superfície, onde se multiplicam e formam o biofilme (Casellas *et al.*, 2011). A aderência bacteriana pode ser influenciada por diversos fatores, como a característica do substrato (carga, composição química, hidrofobicidade), fatores ambientais (pH, temperatura, administração de antibióticos) e características bacterianas (hidrofobicidade, mecanismos de adesão, carga da superfície) (Katsikogianni *et al.*, 2006). As células planctônicas são essenciais para proliferação e propagação bacteriana, enquanto a forma séssil é responsável pela cronicidade da infecção. O processo de formação de biofilme pode ser dividido em duas etapas: reversível e irreversível (Moraes *et al.*, 2013).

Durante as etapas de contato, adesão e formação de micro-colônias cada bactéria passa a produzir moléculas sinalizadoras que, dependendo dos estímulos locais e principalmente da concentração atingida no microambiente, desencadeia a ativação de genes específicos com a mudança do fenótipo de bactérias planctônicas para o fenótipo de biofilme. A ativação de genes envolvidos com o fenótipo de biofilme acarreta a produção de matriz extracelular, crescimento e agrupamento tridimensional das bactérias, aumento da aderência à superfície e formação de canais aquosos para a troca de água e nutrientes com o meio externo. O biofilme pode permanecer aderido à superfície por longo período ou então se desprender, servindo como uma fonte perpetuadora do ciclo ao liberar formas planctônicas para colonização de novos sítios à distância (Rinaudo *et al.*, 2010).

Os biofilmes formados por *S. agalactiae* tem sido um importante fator de virulência relacionado à mastite bovina, linfadenite, cárie dentária e enxertos vasculares (Costerton *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2002).

De acordo com os dados anteriormente descritos, os *S. agalactiae* têm emergido como importante patógeno responsável por sepse e pneumonia em neonatos e adultos. Contudo, a patogênese das infecções invasivas permanece pouco esclarecida. Deste modo, o presente projeto teve como objetivo principal a análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto Nacional do Câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014, incluindo a formação de biofilme em superfície abióticas.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 Objetivos gerais

De acordo com os dados anteriormente descritos, o *S. agalactiae* tem emergido como importante patógeno responsável por sepse e pneumonia em neonatos e adultos imunocomprometidos. Contudo, a patogênese das infecções invasivas permanece pouco esclarecida, principalmente em portadores de câncer. Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo principal a análise de aspectos microbiológicos e epidemiológicos de amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes com câncer atendidos no Instituto Nacional do Câncer (HCI-RJ) durante o período de 2010-2014.

### 1.2 Objetivos específicos

- a) Coleta de dados de prontuários médicos do Instituto Nacional do câncer (HCI-1) durante o período de 2010-2014;
- b) Obtenção e identificação de amostras de *S. agalactiae* obtidas de pacientes do HCI-1 durante os anos de 2013-2014;
- c) Determinação do perfil de resistência aos agentes antimicrobianos das amostras de *S. agalactiae*;
- d) Avaliação da prevalência de *S. agalactiae* em espécimes clínicos de origens diversas do HCI-1;
- e) Análise quantitativa da formação de biofilme em superfície abiótica.

## 2 MATERIAS E MÉTODOS

### 2.1 Cenário de Estudo e Pacientes envolvidos

O Instituto Nacional do Câncer - INCA está localizado na região metropolitana do Rio de Janeiro, sendo referência brasileira para a prevenção e controle do câncer no país e coordenado pelo Ministério da Saúde (MS /Conprev). Possui cerca de 364 leitos, distribuídos nas seguintes unidades: HCI (200 leitos), HCII (90 leitos), HCIII (60 leitos). Além da Unidade de Transplante de Medula Óssea (14 leitos). Durante os últimos cinco anos foram realizadas 717.208 consultas médicas, 76.962 internações e 74.332 procedimentos cirúrgicos. As informações sobre casos de infecção por *S. agalactiae* foram coletadas a partir do laboratório de microbiologia/INCA e dos registros clínico-epidemiológicos capturados em arquivos da Comissão Mista de Controle de Infecção e de Vigilância do INCA (CMCIV/INCA), durante cinco anos (janeiro/2010 a dezembro/2014). Os pacientes hospitalizados foram monitorados por, pelo menos um membro da CMCIV/INCA como parte da vigilância antimicrobiana do laboratório de microbiologia da instituição. Este projeto foi aprovado pela Comitê de Ética-Plataforma Brasil CAAE: 04124313.0.0000.5259

### 2.2 Amostras clínicas de *Streptococcus agalactiae*: definições de infecções

As amostras clínicas de *Streptococcus agalactiae* foram obtidas de sítios suspeitos de infecção. Foram interpretadas como culturas positivas quando culturas infectadas derivadas de um local normalmente estéril estavam associadas com clínica de quadro febril e suspeita de infecção. Foi considerado também se o médico iniciou imediatamente a terapia antimicrobiana específica.

Hemoculturas foram obtidas sempre aos pares, sendo que pelo menos uma das amostras coletadas foi através do cateter venoso central, se presente.

Cultura urinária positiva foi considerada significativa independentemente da contagem de bactérias no local ou sinais sistêmicos de infecção. Piúria foi necessária em apenas doentes não neutropênicos.

Infecções do trato respiratório foram definidas pela presença progressiva de infiltrado pulmonar, consolidação ou lesão escavada observadas após avaliação das radiografias



torácicas. Pacientes com neutropenia febril, radiografia torácica inicial normal com surgimento de infiltrado pulmonar durante a recuperação de medula óssea foram considerados com pneumonia. Secreção traqueal, escarro ou aspirações traqueais em pacientes não entubados foram consideradas positivas quando associadas a sinais clínicos ou radiológicos que indicavam infecção (Hughes *et al.*, 1996).

Infecção invasiva foi definida como isolamento de *S. agalactiae* a partir de sangue ou de outro sítio normalmente estéril [por exemplo, líquido cefalorraquidiano (LCR), articulação, osso e urina]. Dados recolhidos para análise epidemiológica incluíram idade, sexo e ano de apresentação; descrição clínica e tipo de infecção, local anatômico, doença de base, comorbidades, tratamento antimicrobiano e óbito.

### 2.3 Amostras de *S. agalactiae*

Os isolados bacterianos obtidos de pacientes hospitalizados no INCA, após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética (2013) foram identificadas pelo Laboratório de Microbiologia/INCA e pelo Laboratório de Biologia Molecular e Fisiologia de Estreptococos da UERJ (LBMFE/UERJ). Os isolados bacterianos foram cultivados em placas de ágar sangue contendo 5% de hemácias de carneiro por 24h a 37°C e grupados como pertencentes ao grupo B de Lancefield utilizando o kit comercial *Streptococcal Grouping Kit* (Oxoid) de acordo com as instruções do fabricante.

As culturas bacterianas foram armazenadas a -70°C em alíquotas de meio líquido “Brain Heart Infusion” (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) contendo 20% de glicerol. Para a realização dos experimentos, as bactérias foram crescidas em “Todd-Hewitt broth” (THB; Becton, Dickinson and Company Sparks, MD, USA) e padronizadas para uma unidade de densidade óptica (DO) de 0,4 em comprimento de onda de 540nm (~1x10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônias por mililitro [UFC/mL]).

### 2.4 Identificação bacteriana

As amostras bacterianas foram cultivadas em placas de ágar sangue contendo 5% de sangue desfibrinado de carneiro durante 16h a 37°C para isolamento, purificação, observação da capacidade hemolítica, detecção do fator CAMP e realização da coloração de Gram.

## 2.5 Coloração de Gram

Para realização da coloração de Gram foi realizado um esfregão com a alça de platina de uma colônia bacteriana crescida em placa de ágar sangue contendo 5% de hemácias de carneiro. O material fixado foi corado com solução de violeta genciana durante 1min, seguido do tratamento com lugol por 1min, descoloração com álcool/acetona (v/v) e coloração com safranina durante 30seg. Terminada a bateria de corantes, a lâmina foi lavada em água corrente e deixada secar na posição vertical para posterior observação ao microscópio, usando objetiva de imersão (100x). As amostras bacterianas que apresentaram coloração violeta escura foram consideradas Gram-positivas e as de coloração rósea como Gram-negativas.

## 2.6 Fator CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen)

A reação de CAMP foi feita em placas de ágar sangue contendo 5% de hemácias de carneiro, onde uma amostra de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi semeada, em estria única, na posição vertical e seis amostras com características de *S. agalactiae* foram semeadas de forma perpendicular à amostra de *S. aureus*. Após 24h de incubação a 37°C foi observada a reação de hemólise na superfície da placa de ágar sangue, em forma de seta ou meia lua produzida pelos *S. agalactiae* crescidos próximos às colônias de *S. aureus*. A hemólise sinérgica é produzida pela ação da esfingomielinase estafilocócica ( $\beta$ -lisina) e o fator CAMP (proteína termoestável) do *S. agalactiae*.

## 2.7 Identificação das amostras por sorologia

As amostras bacterianas foram identificadas por sorologia utilizando o kit Oxoid Streptococcal grouping (Oxoid Streptococcal grouping kit DR0584A), conforme recomendação do fabricante. Este é um teste de aglutinação em látex para identificação dos estreptococos pertencentes aos grupos A, B, C, D, F e G.

A enzima de extração para estreptococos (DR593) do kit Oxoid foi reconstituída em água destilada estéril em 10mL, onde alíquotas de 400 $\mu$ L foram adicionadas de 2-4 colônias

isoladas de cada amostra e incubadas em banho maria por 10min a 37°C, sob agitação. Posteriormente, uma gota de cada reagente contendo partículas de látex recobertas com anticorpos contra os grupos A, B, C, D, F e G de Lancefield foi dispensada em círculos do cartão de reação (DR500) e, posterior adição de uma gota do extrato bacteriano/círculo. A mistura foi homogeneizada e após 30seg observou-se a presença ou ausência de aglutinação. O resultado foi positivo quando a aglutinação ocorrer em um dos reagentes do grupo de Lancefield (A, B, C, D, F ou G) ou se um dos reagentes apresentar uma reação consideravelmente mais forte do que os outros cinco grupos de estreptococos.

## **2.8 Teste de sensibilidade das amostras de *S. agalactiae* aos agentes antimicrobianos através do método de disco-difusão**

Suspensões bacterianas padronizadas para escala 0,5 de McFarland em solução salina estéril 0,9% (5mL) foram semeadas com um *swab* em placa de Müller-Hinton contendo 5% de hemácias de carneiro. Foram utilizados os seguintes antibióticos: penicilina G (10µg), ceftriaxona (30µg), levofloxacina (5µg), cloranfenicol (30µg), linezolida (30µg), vancomicina (30µg), tetraciclina (30µg), azitromicina (15µg), eritromicina (15µg) e clindamicina (2µg), de acordo com a recomendação do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2016). Nove discos de antibióticos foram dispostos em cada placa medindo 150 mm. Após o período de incubação a 24-48h a 37°C a análise dos resultados foi feita com a medição do diâmetro dos halos e as amostras classificadas de acordo com o CLSI (2016) em resistente (R), intermediária (I) e sensível (S). A resistência a múltiplas drogas (RMD) foi definida de acordo com Magiorakos e colaboradores (2012), onde amostras com resistência a três ou mais antibióticos foram consideradas RMD.

## **2.9 Formação de biofilme em microplacas de poliestireno**

Suspensões bacterianas (108 UFC/mL) em meio BHI pH 7,4 foram distribuídas em microplacas de poliestireno de fundo plano com 96 poços (200µL/poço) (Corning Incorporated, Corning, NY, EUA) e incubadas por 24h e 48h a 37°C. Após cada período de

incubação, as células planctônicas foram removidas através de lavagens com solução salina estéril 0,9%, fixadas com metanol 99% (200  $\mu$ L/poço) durante 15min e adicionadas de uma solução aquosa de cristal violeta a 0,2% (200  $\mu$ L/poço) por 15min. O excesso de corante foi removido por lavagem em água corrente e o corante impregnado no biofilme, relativo à quantidade de massa aderida foi solubilizado com adição de ácido acético a 15% (160  $\mu$ L/poço). A quantificação foi realizada pela determinação da absorbância, mensurada a  $\lambda=570\text{nm}$  em um leitor de microplacas (Thermo Scientific Multiskan Spectrum). O critério de classificação da formação de biofilme foi: forte produtora, +++ ( $\text{DO}_{570} > 1,36$ ), elevada produtora, ++ ( $1,36 > \text{DO}_{570} > 1,0$ ), moderada produtora, + ( $1,0 > \text{DO}_{570} > 0,5$ ), fracamente produtora ( $0,5 > \text{DO}_{570} > \text{controle}$ ) e não-produtora ( $\text{DO}_{570} = \text{controle}$ ) (D'Urzo *et al.*, 2014).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Infecções por *S. agalactiae* em pacientes com câncer

Amostras de *S. agalactiae* foram isoladas e identificadas em pacientes atendidos no HC1/INCA com infecções bacterianas durante o período de 2010-2014. A **Tabela 1** demonstra as infecções por *S. agalactiae* em 263 pacientes apresentando tumores sólidos (94%) e hematológicos (6%), acrescidos das seguintes condições subjacentes: neutropenia (2,7%), utilização de dispositivos médicos (77,2%), traqueostomia (14,4%), radioterapia (39,9%), quimioterapia (24%), transfusões (15,2%), cirurgia (71,5%) e infecções intravenosas (7,2%), principalmente em pacientes com tumores sólidos. Não houve diferenças relativas ao sexo masculino (50,95%) e feminino (49,04%).

Tabela 1 – Características dos pacientes do Hospital de Referência - INCA

Características	Malignidade	
	Tumores sólidos (n = 248)	Tumores hematológicos (n=15)
<b>Sexo e Idade</b>		
Masculino	125	9
Feminino	123	6
Neutropenia	6	1
<b>Dispositivos Médicos</b>		
CVC	31	4
Sonda Nasogástrica	44	0
Cateter Epidural	17	0
Cateter Urinário	101	6
<b>Tratamentos</b>		
Traqueostomia	38	0
Radioterapia	105	0
Quimioterapia	63	0
Transfusão	40	0
Procedimentos Cirúrgicos	182	6
<b>Isolados Intravenosos de <i>S. agalactiae</i></b>		
Sangue	14	2
Outros tipos de Cateteres	5	0

Total de 263 pacientes com câncer infectados por *S. agalactiae* atendidos pelo Hospital de Referência - INCA, Rio de Janeiro, Brasil durante o período de 5 anos (2010-2014).

### 3.2 Identificação das amostras de *S. agalactiae*

Somente as amostras obtidas no período de 2013-2014 (n=39), após aprovação pelo Comitê de Ética foram recuperadas e identificadas no LBMFE/UERJ (**Tabela 2**). As amostras de *S. agalactiae* apresentaram  $\beta$ -hemólise em placas de ágar sangue contendo 5% de sangue desfibrinado de carneiro após 24h de incubação a 37°C. Todas as amostras bacterianas (100%) apresentaram coloração violeta escura na coloração de Gram e hemólise sinérgica produzida pela ação da esfingomielinase estafilocócica, sendo caracterizadas como bactérias Gram positivas e fator CAMP positivo, respectivamente. Além disso, as amostras apresentaram reação de aglutinação sorológica positiva para *S. agalactiae* (Streptococos do grupo B de Lancefield), utilizando o kit comercial da Oxoid (dados não mostrados).

Tabela 2 – Amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes no INCA durante o período de 2013-2014

**Tabela 2** Amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes no INCA durante o período de 2013-2014.

Amostras	Material coletado	Idade	Sexo
2013/01	SANGUE	61 anos	Masculino
2013/02	URINA	60 anos	Feminino
2013/03	URINA	63 anos	Masculino
2013/04	URINA	1299065	Masculino
2013/05	URINA	5065013	Feminino
2013/06	URINA	68 anos	Feminino
2013/07	URINA	59 anos	Feminino
2014/01	URINA	56 anos	Masculino
2014/02	SANGUE	58 anos	Feminino
2014/04	SECTRA	75 anos	Masculino
2014/06	URINA	61 anos	Feminino
2014/07	SANGUE	56 anos	Masculino
2014/12	SANGUE	39 anos	Feminino
2014/14	ABCESSO PULMONAR	47 anos	Masculino
2014/16	URINA	68 anos	Masculino
2014/17	SECREÇÃO	58 anos	Feminino
2014/18	URINA	60 anos	Feminino
2014/19	URINA	21 anos	Feminino
2014/22	SECTRA	67 anos	Masculino
2014/23	URINA	58 anos	Feminino
2014/25	SANGUE	75 anos	Masculino
2014/27	SECTRA	58 anos	Masculino
2014/28	URINA	71 anos	Masculino
2014/29	URINA	52 anos	Feminino
2014/30	URINA	66 anos	Feminino
2014/33	URINA	87 anos	Masculino
2014/34	URINA	63 anos	Feminino
2014/35	SANGUE	68 anos	Masculino
2014/36	URINA	68 anos	Masculino
2014/37	URINA	70 anos	Masculino
2014/38	URINA	56 anos	Masculino
2014/39	URINA	76 anos	Feminino
2014/40	URINA	33 anos	Feminino
2014/41	SANGUE	24 anos	Feminino
2014/42	SECTRA	59 anos	Feminino
2014/43	URINA	61 anos	Masculino
2014/44	URINA	65 anos	Masculino
2014/45	URINA	82 anos	Masculino
2014/46	SECREÇÃO BILIAR	60 anos	Feminino

### 3.3 Tratamento dos pacientes infectados por *S. agalactiae*

Os diferentes agentes antimicrobianos utilizados para o tratamento de pacientes com infecções por *S. agalactiae* e seus respectivos espectros de resistência aos antimicrobianos testados estão demonstrados na **Tabela 3**. Amostras bacterianas foram 100% sensíveis a ampicilina, penicilina G, linezolida, moxifloxacina e vancomicina. *S. agalactiae* expressaram resistência aos seguintes antibióticos: 94,8% para tetraciclina (CMI = 16 µg/mL), 1,3% de cefazolina (CMI= 32 µg/mL), 8,4% de clindamicina (CMI > 1 µg/mL), 2,7% de eritromicina (CMI > 1 µg/mL), 2,1% de ciprofloxacina (CMI = 5 µg/mL), 38,5% norfloxacina (CMI = 8 µg/mL). Entre os totais isolados, 2,7% apresentaram resistência concomitante para clindamicina e eritromicina.

Tabela 3 – Tratamento dos 263 pacientes infectados com *S. agalactiae* durante o período de 2010-2014

**Tabela 3** Tratamento dos 263 pacientes infectados com *S. agalactiae* durante o período de 2010-2014.

Antibióticos	Número de Amostras (%)	Resistência (%)
Ampicilina	259 (98,5)	0
Penicilina G	251 (95,4)	0
Linezolida	189 (71,8)	0
Tetraciclina	155 (58,9)	94,8 (CMI=16 µg/mL)*
Cefazolina	149 (55,7)	1,3 (CMI= 32 µg/mL)
Clindamicina	131 (49,8)	8,4 (CMI > 1 µg/mL)
Eritromicina	113 (42,9)	2,7 (CMI > 1 µg/mL)
Ciprofloxacina	94 (35,7)	2,1 (CMI = 5 µg/mL)
Moxifloxacina	64 (24,3)	0
Vancomicina	54 (20,5)	0
Norfloxacina	39 (14,8)	38,5 (CMI = 8 µg/mL)

\* CMI: Concentração mínima inibitória. *Breakpoints* de acordo com o CLSI 2016 *guidelines*.



### 3.4 Incidência de infecções invasivas por *S. agalactiae* em adultos oncológicos

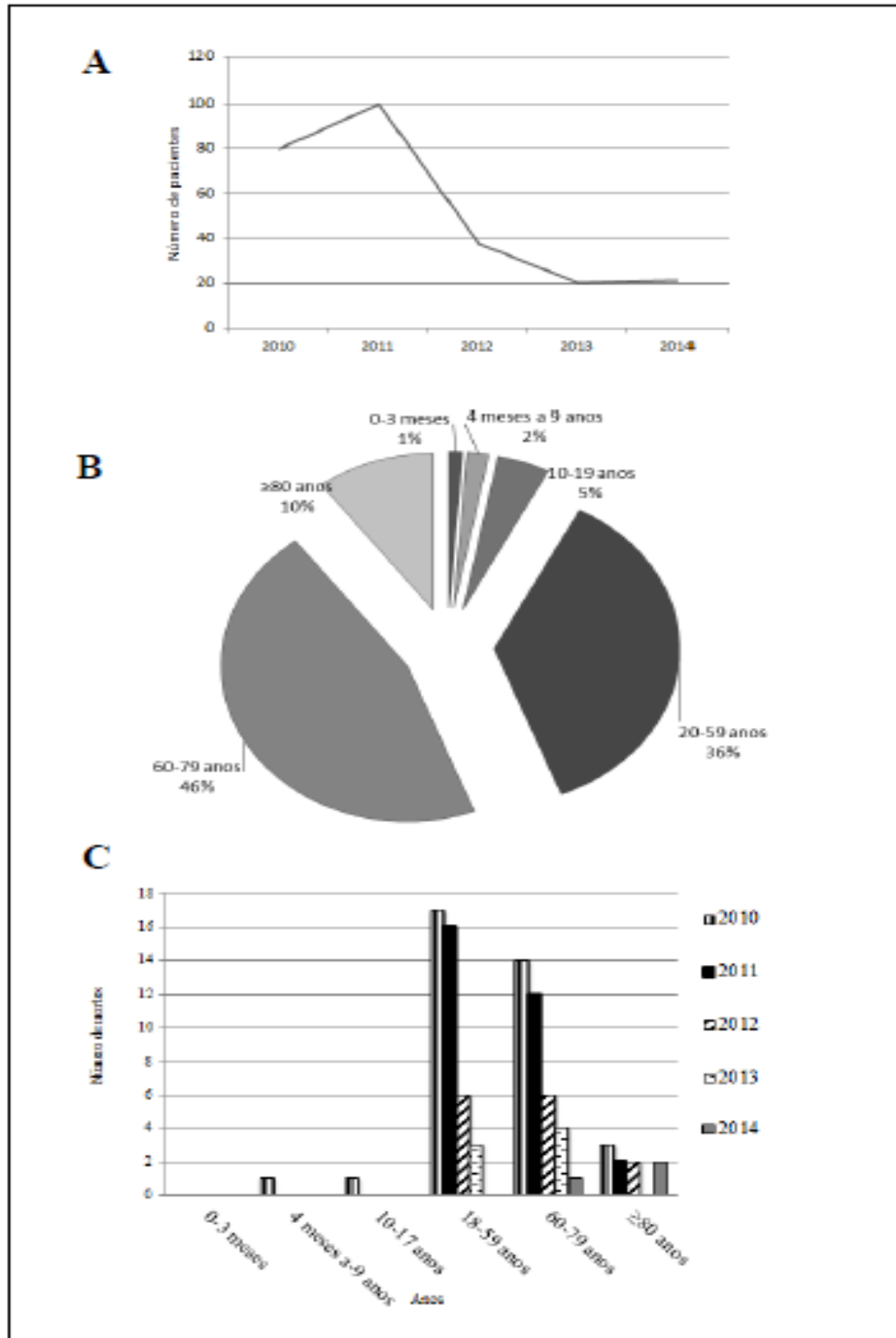
A incidência de doenças invasivas causadas por *S. agalactiae* em adultos com câncer está demonstrada na **Figura 1**. O maior número de pacientes infectados por *S. agalactiae* ocorreu entre os anos de 2010 e 2011, decaindo nos anos posteriores (**Figura 1A**). A proporção de doentes com infecção por *S. agalactiae* ocorreu em diferentes faixas etárias: 0 a 3 meses (1%); 4 a 9 meses (2%); 10 a 19 anos (5%); 20 a 59 anos (36%); 60 a 79 anos (46%) e  $\geq 80$  anos (10%) (**Figura 1B**).

Os dados apresentados na **Figura 1C** mostram o número total de mortes/ano dos pacientes com câncer infectados por *S. agalactiae* de acordo com a idade. A mortalidade foi de 34,2% (90/263), ocorrendo em maior percentual nos pacientes com idades entre 20 a 79 anos. Embora a infecção por *S. agalactiae* seja considerada comum em recém-nascidos; nos pacientes oncológicos, a idade predominantemente foi observada entre 20-79 anos de idade, sendo 42 adultos (20-59 anos; 46,7%) e 46 idosos ( $> 60$  anos; 51,1%).

Morte de criança e adolescente ocorreu em dois casos com infecção por *S. agalactiae*, ambos usando dispositivos médicos: um com leucemia linfocítica aguda (5 anos) e outro com osteossarcoma (16 anos). Não houve óbito intra-hospitalar de recém-nascidos (0-3 meses) durante este estudo.

Figura 1 – Incidência de doenças invasivas causadas por *S. agalactiae* em pacientes com câncer

**Figura 1** Incidência de doenças invasivas causadas por *S. agalactiae* em pacientes com câncer



**A** Distribuição anual de casos de infecções por *S. agalactiae* durante o período de cinco anos de estudo (2010-2014). **B** Infecções invasivas por *S. agalactiae* distribuídas por idade dos pacientes. **C** Número de mortes de pacientes com câncer infectados por *S. agalactiae*.

### 3.5 Locais de isolamento de *S. agalactiae* e mortalidade em pacientes oncológicos

A **Tabela 4** demonstra que a maioria dos isolados de *S. agalactiae* foi de urina (55,5%), seguido de aspirado traqueal (10,3%), tecidos moles (9,5%), pulmões (8,4%), sangue (7,6%), anal/vaginal (3,8%), fluido (0,4%) e outros sítios diversos (4,5%). Após 2011, houve uma redução significativa no isolamento de *S. agalactiae*.

Tabela 4 – Número e origem de amostras de *S. agalactiae* durante o período de 2010-2014

**Tabela 4** Número e origem de amostras de *S. agalactiae* durante o período de 2010-2014

Ano	Urina	Aspirado Traqueal	Tecidos Moles	Pulmões	Sangue		Anal/Vaginal	Fluido	Outros
					Sangue	Cateter			
2010 (n = 80)	39	8	10	9	4	2	6	0	2
2011 (n = 98)	57	12	8	9	2	3	4	1	2
2012 (n = 36)	17	4	3	3	3	0	0	0	6
2013 (n = 23)	16	1	3	0	2	0	0	0	1
2014 (n = 26)	17	2	1	1	4	0	0	0	1
<b>Número</b>	146	27	25	22	20		10	1	12
<b>Total (%)</b>	(55,5%)	(10,3%)	(9,5%)	(8,4%)	(7,6%)		(3,8%)	(0,4%)	(4,5%)

Amostras de *S. agalactiae* isoladas de pacientes com câncer (n = 263) atendidos no Centro de referência – INCA, Rio de Janeiro, Brasil.

A proporção de casos de morte foi de (34,2 %) num total de 90 óbitos (**Tabela 4**). O maior número de casos foi no ano de 2010 em isolados de urina, ocorrendo um decréscimo nos anos seguintes. Curiosamente, a morte ocorreu na sua maioria em pacientes com infecções traqueais (66,7%), seguido por infecções pulmonares (54,2), sanguínea (45%; incluindo 5% infecções por cateter), anal/vaginal (40%), urinária (24,7%) e tecidos moles (24%), além de outras infecções diversas (41,7%).

Tabela 5 – Proporção de casos de mortalidade

Tabela 5 Proporção de casos de mortalidade

Anos (mortes pelo total de casos)	Número de mortes por sítio clínico de infecção							
	Urina	Aspirado Traqueal	Tecidos Moles	Pulmões	Amostras Sanguíneas		Anal/ Vaginal	Outros
					Sangue	Cateter		
2010 (n = 36/80)	16/39	7/8	3/10	4/9	2/4	0/2	4/6	0/2
2011 (n = 30/98)	12/57	7/12	3/8	5/9	1/2	1/3	0/4	1/3
2012 (n = 14/36)	3/17	4/4	0/3	3/3	1/3	0/0	0/0	3/6
2013 (n = 7/23)	4/16	0/1	0/3	0/0	2/2	0/0	0/0	1/1
2014 (n = 3/26)	1/17	0/2	0/1	0/1	2/4	0/0	0/0	0/1
<b>Total</b> (%)	36/146 (24,7%)	18/27 (66,7%)	6/25 (24%)	12/22 (54,2%)	9/20 (45%)		4/10 (40%)	5/13 (41,7%)

Mortalidade dos pacientes com câncer infectados por *S. agalactiae* (n = 263) no Centro de Referência - INCA, Rio de Janeiro, Brasil, (34,2 %, n = 90) durante um período de 5 anos (2010–2014).

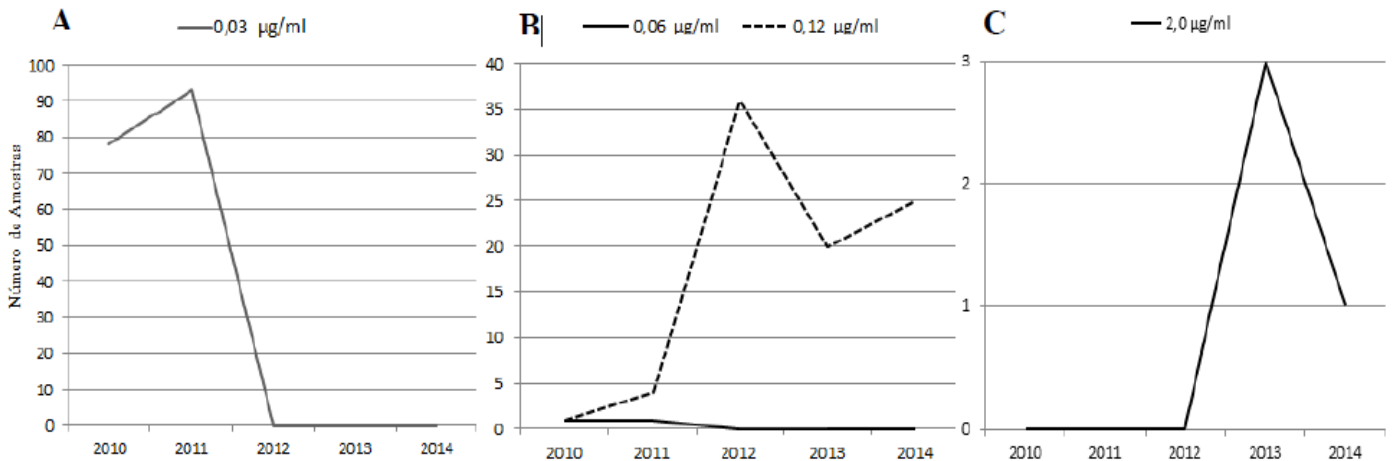
### 3.6 Susceptibilidade reduzida à penicilina

Durante o período de 2010-2014 foi observada alterações nos valores de CMI para a penicilina de amostras de *S. agalactiae*. Em 2010-2011, as amostras bacterianas apresentaram CMI= 0,03 µg/mL com aumento progressivo em 2012 variando de 0,06 µg/mL a 0,12 µg/mL (**Figura 2A e 2B**). Contudo, em 2013 três amostras de *S. agalactiae* isoladas de origem clínica diversa (sangue-tumor pulmonar, líquido ascítico-tumor pâncreas e urina-tumor pulmonar) mostraram susceptibilidade reduzida à penicilina (2 µg/mL), cujos pacientes foram a óbito poucos meses após identificação bacteriana. (**Figura 2C**).

No ano de 2014, os isolados de *S. agalactiae* apresentaram CMI=0,12 µg/mL.

Figura 2 – *S. agalactiae* com susceptibilidade reduzida à penicilina em pacientes com câncer durante 2010-2014

**Figura 2** *S. agalactiae* com susceptibilidade reduzida à penicilina em pacientes com câncer durante 2010-2014.



**A** concentração inibitória mínima (CMI) = 0,03 µg/mL. **B** Os valores de CMI de 0,06 a 0,12 µg/mL. **C** Valor de CMI = 2,0 µg/mL.

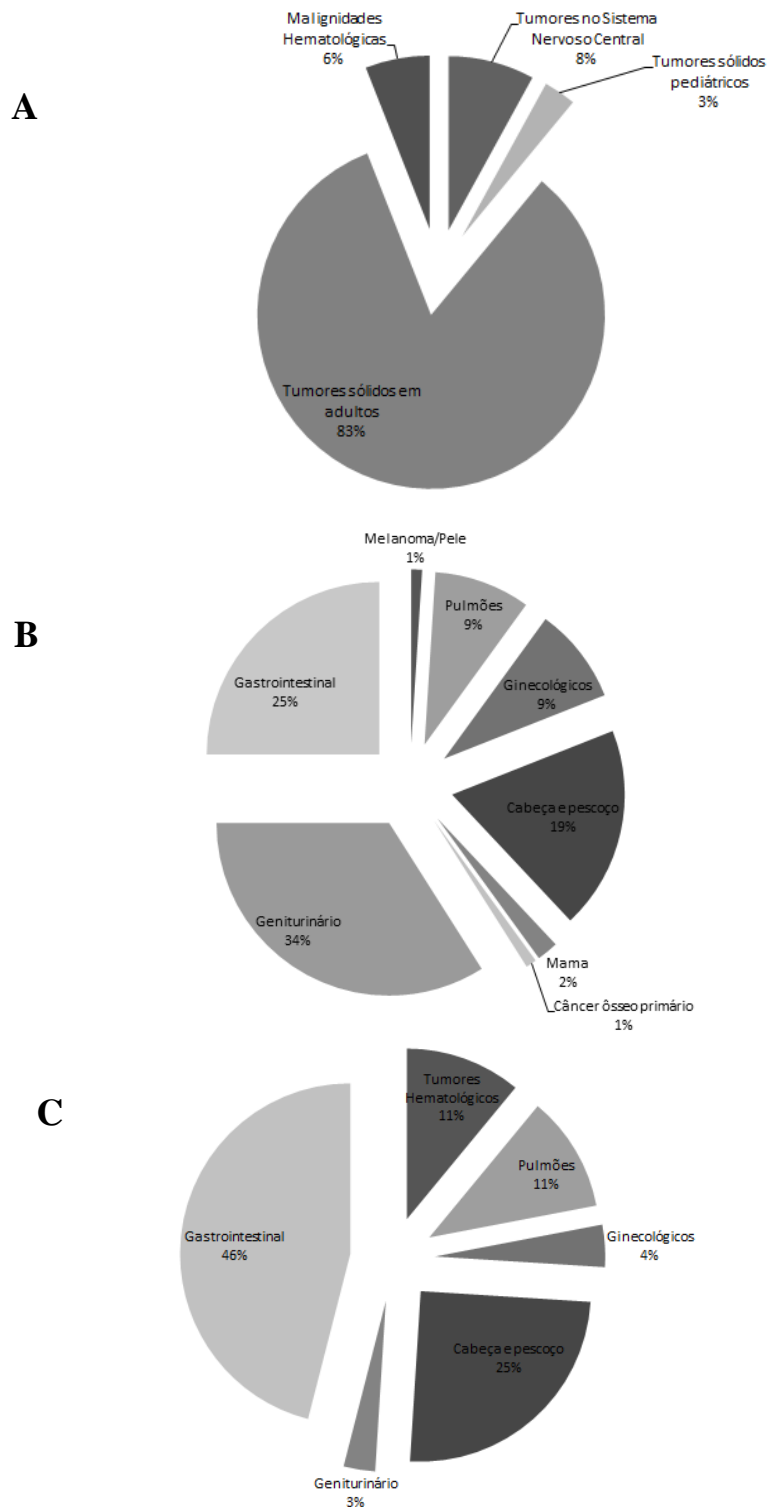
### 3.7 Principais tipos de tumores e infecções por *S. agalactiae*

Na **Figura 3** está representado o percentual dos principais tipos de tumores e infecções por *S. agalactiae*. A prevalência observada foi de tumores sólidos (86%; adulto e pediátrico). Pacientes adultos com tumores sólidos corresponderam a 83% dos casos, seguido de tumores no sistema nervoso central (8%), malignidade hematológicas (6%) e tumores sólidos pediátricos (3%) (**Figura 3A**).

A distribuição dos tumores sólidos está demonstrada na **Figura 3B**, onde a maioria foi do trato geniturinário (34%), seguido do trato gastrointestinal (25%), cabeça e pescoço (19%), ginecológico (9%), pulmonar (9%), mama (2%), ósseo (1%) e pele (1%).

A mortalidade intra-hospitalar durante 30 dias após a identificação de *S. agalactiae* foi relacionada com infecções invasivas por *S. agalactiae* em 31.1% dos casos (n = 28), onde as principais doenças neoplásicas associadas foram: gastrointestinal (46%), cabeça e pescoço (25%), pulmonar (11%), hematológica (11%), ginecológica (4%) e genito-urinária (3%) (**Figura 3C**).

Figura 3 – Número de pacientes (%) com desordens neoplásicas apresentando fatores de risco por infecções causadas por *S. agalactiae*



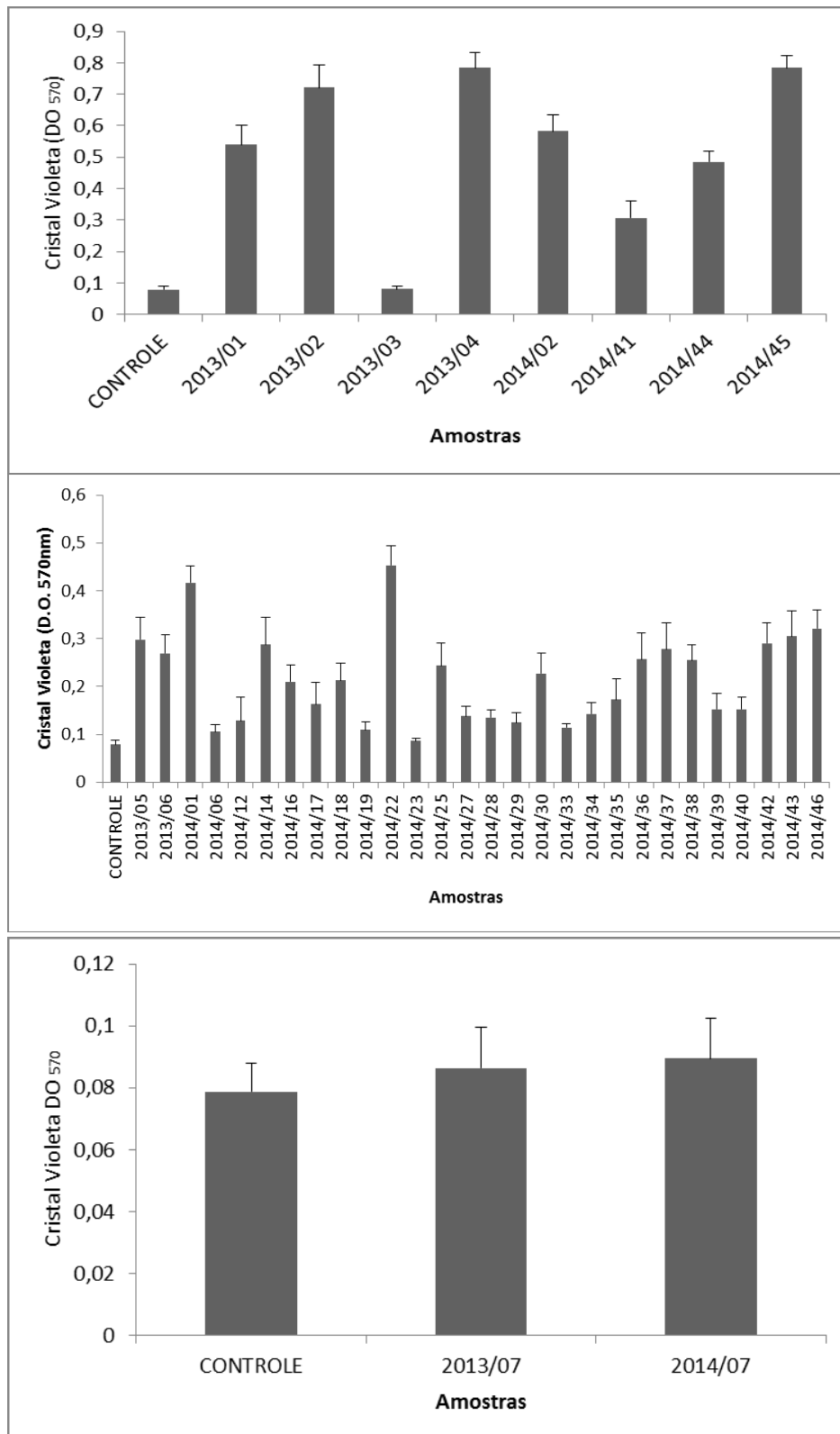
Legenda: a) Pacientes com tumores sólidos (adultos e pediátricos) no sistema nervoso central ou malignidade hematológica. b) Diferentes tipos de tumores sólidos em adultos. c) Taxa de mortalidade intra-hospitalar (30 dias após identificação do *S. agalactiae*) em pacientes com câncer com infecções por *S. agalactiae*.

### 3.8 Análise da formação de biofilme

Os resultados obtidos nos experimentos de formação de biofilme das amostras de *S. agalactiae* em superfície abiótica utilizando microplacas de poliestireno estão representados na **Figura 4**. As amostras bacterianas apresentaram capacidade de formação de biofilme variada após 24h e 48h de incubação. Para a maioria das amostras estudadas, a produção de biofilme foi tempo-independente. Após 24h, apenas 21,05% (n=8/38) e 73,68% (n=28/38) das amostras de *S. agalactiae* foram consideradas como moderadas produtoras ( $1,0 > \text{DO570} > 0,5$ ) e fracas produtoras de biofilme ( $0,5 > \text{DO570} > \text{controle}$ ), respectivamente (**Figura 4A e 4B**). Apenas duas amostras bacterianas testadas apresentaram-se como fracas produtoras de biofilme ( $\text{DO570} < 0,5$ ) (**Figura 4C**). Nenhuma amostra foi considerada forte formadora de biofilme no tempo de 24h de incubação.

Contudo, após o período de 48h de incubação, 8,1% (n=3/37) e 81,08% (n=30/37) demonstraram moderada e fraca formação de biofilme, respectivamente (**Figura 5A e 5B**). As amostras 2014/02; 2014/06; 2014/27 e 2014/29 não apresentaram crescimento considerável, sendo assim classificadas como não produtoras de biofilme (**Figura 5C**).

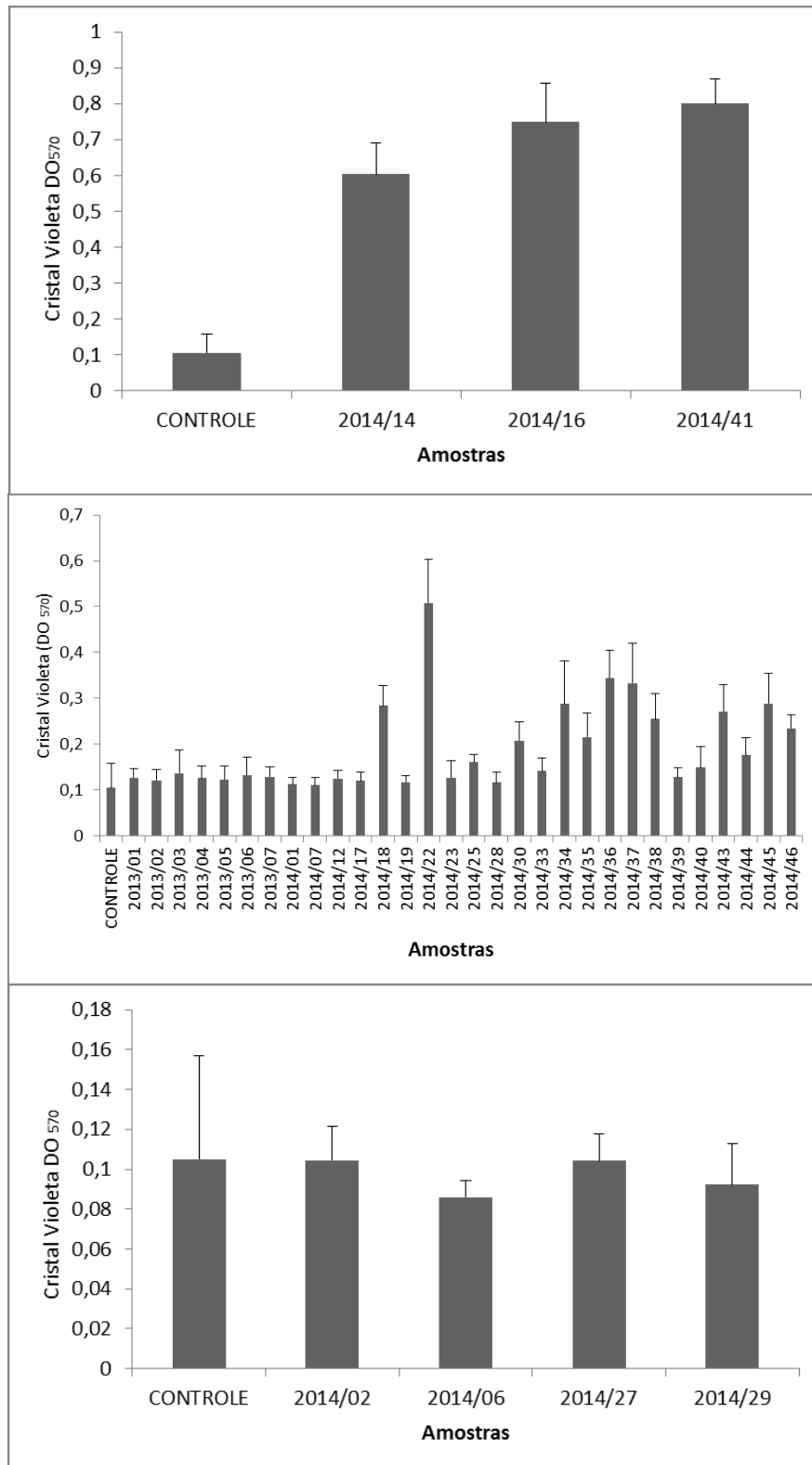
Figura 4 - Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de *S. agalactiae* obtidas de pacientes do INCA-HCI após 24 de incubação



Legenda: a) Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de *S. agalactiae* obtidas de pacientes oncológicos do INCA - HCI, consideradas como moderadas produtoras em 24h incubação; b) Fracas produtoras em 24h; c) Não produtoras de biofilme em 24h.



Figura 5 - Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de *S. agalactiae* obtidas de pacientes do INCA-HCI após 48 de incubação



Legenda: a) Formação de biofilme em superfície abiótica por amostras de *S. agalactiae* obtidas de pacientes oncológicos do INCA - HCI, consideradas como moderadas produtoras de biofilme em 48h incubação; b) Fracas produtoras em 48h; c) Não produtoras de biofilme em 48h.

## 4 DISCUSSÃO

Infecções por *S. agalactiae* em países em desenvolvimento continua pouco investigadas. A incidência mundial de infecções invasivas em adultos é variável e influenciada pela associação com fatores predisponentes como doenças hepáticas, diabetes e câncer (Blancas *et al.*, 2004). Em 10 estados do EUA foi registrado um aumento de 2,4 vezes nas infecções graves causadas por *S. agalactiae* desde 1990 (Skoff *et al.*, 2009; Sendi *et al.*, 2008). Contudo, poucos estudos descreveram infecções por *S. agalactiae* em adultos imunocomprometidos, incluindo pacientes com câncer (Larppanichpoonphol *et al.*, 2001 ; Dagneu *et al.*, 2012). Apenas um relato na América Latina (Cali, Western Colombia) descreveu casos de infecções invasivas por *S. agalactiae* em pacientes com câncer (n = 14; 24,6%) e/ou neoplasias hematológicas (n = 7; 12,3%) admitidos em hospital de nível terciário com equipamentos de alta incorporação tecnológica e pessoal de formação especializada mais intensiva (Crespo-Ortiz *et al.*, 2014).

Neste trabalho foram demonstradas infecções causadas por *S. agalactiae* isoladas de sítios diversos em pacientes oncológicos do Instituto Nacional do Câncer (HCI-RJ), hospital de referência oncológica no estado do Rio de Janeiro. Foram coletadas informações de prontuários médicos de todos os casos de isolamento e identificação de amostras de *S. agalactiae* do HCI-RJ referente aos anos de 2010 a 2014 para análise retrospectiva. Além disso, foi realizada a identificação de amostras de *S. agalactiae* obtidas de processos de infecção e/ou colonização de pacientes do HCI-RJ durante o período de 2013-2014, após aprovação pelo Comitê de Ética/Plataforma Brasil.

Os dados mostraram elevada proporção de *S. agalactiae* isolados de urina (55,5%), demonstrando a importância desse patógeno em infecções urinárias em nossa comunidade, assim como descrito em pacientes na Colômbia (Crespo-Ortiz *et al.*, 2014). Estudos demonstraram que infecções urinárias por *S. agalactiae* apresentaram análise quantitativa de aproximadamente 10<sup>4</sup> unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL) na maioria dos casos, reforçando que a bacteriúria por *S. agalactiae* poderia ser interpretada de forma mais adequada com diminuição dos valores de corte geralmente usados de >10<sup>5</sup> UFC/mL (Verani *et al.*, 2010; Tan *et al.*, 2012). Um dos maiores problemas enfrentados para que qualquer contagem de colônia de *S. agalactiae* na urina seja relatada é o aumento na carga de trabalho para os laboratórios de microbiologia clínica, que geralmente não relatam o crescimento de

bactérias na urina de outros patógenos em concentrações  $\leq 104$  UFC/mL e raramente sabem se amostras de urina são de gestantes ou adultos imunocomprometidos, por exemplo.

Nossos resultados demonstraram a vulnerabilidade de pacientes com câncer a infecções por *S. agalactiae*. A maioria de casos ocorreu em adultos de 20 a 79 anos de idade (82%). No Departamento de Medicina Interna em Youngstown, EUA a elevada incidência de infecções por *S. agalactiae* (94%) também foi descrita em pacientes idosos portadores de *diabetes mellitus*, cuja mortalidade atingiu 16,7% (Larppanichpoonphol *et al.*, 2001). Estudos realizados na Califórnia durante 1995 a 2012 identificaram 3917 casos de infecção por *S. agalactiae* com aumento da incidência da doença de 5,8 para 8,3 casos/100.000 pessoas. Em adultos com  $\geq 40$  anos, a incidência global de *S. agalactiae* aumentou de 8,5 para 14,2 casos/100.000 pessoas durante o período de estudo. As taxas de incidência mais altas foram observadas em homens, pessoas com idades  $\geq 80$  anos, negros e hispânicos (Smith *et al.*, 2015).

A mortalidade em idosos por *S. agalactiae* tem aumentado nos Estados Unidos, atingindo cerca de 50% (Edwards *et al.*, 2005). A mortalidade hospitalar global para adultos não grávidos variou de 3 a 23,7% em todo o mundo (Larppanichpoonphol *et al.*, 2001; Blancas *et al.*, 2004 ; Ho *et al.*, 2006). No Norte da Tailândia, nos EUA e em Taiwan foram observadas taxas de mortalidade de 14 a 19% para pacientes com condições predisponentes diferentes de doenças malignas (Ho *et al.*, 2006 ; Skoff *et al.*, 2009 ; Chaiwarith *et al.*, 2011).

No presente estudo, a morte ocorreu em um total de 34,2% dos pacientes oncológicos com infecções invasivas por *S. agalactiae*. A taxa de mortalidade em adultos apresentou uma diminuição significativa a partir de 2012, provavelmente devido à introdução de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos associados a inibidores de  $\beta$ -lactamase para o tratamento de todos os pacientes internados com infecção urinária no HC1-INCA. No Japão, estudo realizado com 443 isolados de *S. agalactiae* obtidos de adultos sem co-morbidades associadas entre o período de 2010 e 2013, demonstrou taxa de mortalidade de 10,2% para faixa etária de 18-90 anos de idade (Morozumi *et al.*, 2016). Outro estudo retrospectivo realizado no Hospital Universitário de Chiang Mai durante o período de 2006 a 2009 demonstrou que pacientes com  $\geq 15$  anos com condições médicas subjacentes como diabetes (20,7%), doenças renais crônicas (12,2%) e malignidade (9,8%) apresentaram infecções por *S. agalactiae*, incluindo meningite, artrite, abscesso subcutâneo e infecção do trato urinário. A mortalidade foi de 14,6% (Chaiwarith *et al.*, 2011). A elevada taxa de mortalidade verificada no nosso trabalho com pacientes com câncer, demonstra a importância das doenças associadas em infecções por *S. agalactiae*.

A penicilina é convencionalmente utilizada como agente de primeira linha para a profilaxia e tratamento de infecções por *S. agalactiae* (Verani *et al.*, 2012). Contudo, em países industrializados, observou-se relatos de resistência de *S. agalactiae* aos antibióticos macrolídeo-lincosamida-estreptogramina e o aparecimento de isolados com susceptibilidade reduzida à penicilina (Longtin *et al.*, 2011; Nagano *et al.*, 2014). O CLSI (2016) define a suscetibilidade de *S. agalactiae* à penicilina como menor ou igual a 0,12 µg/mL, entretanto, desde 1994 foram notificadas amostras de *S. agalactiae* com susceptibilidade reduzida à penicilina (CMI 0,25 a 8 µg/mL) em diferentes países (Longtin *et al.*, 2011; Kimura *et al.*, 2013; Crespo-Ortiz *et al.*, 2014).

Na Colômbia, duas amostras mostraram susceptibilidade reduzida à penicilina com CMI > 8 µg/mL. Um deles, obtido de cateter mostrou susceptibilidade à ampicilina (CMI = 4 µg/mL) e resistência à eritromicina (CMI > 4 µg/mL). No presente estudo, observou-se um aumento dos valores de CMI para a penicilina em amostras de *S. agalactiae* variando entre 0,03 µg/mL a 2 µg/mL no período de 2010 a 2014. Três isolados de *S. agalactiae* com susceptibilidade reduzida à penicilina (2 µg/mL) foram identificados em 2013 obtidos de sangue (tumor pulmonar), fluido ascítico (tumor pâncreas) e urina (tumor pulmonar), cujos pacientes foram a óbito poucos meses após identificação bacteriana.

Infelizmente, as amostras de *S. agalactiae* com susceptibilidade reduzida à penicilina não foram recuperadas em ambos os estudos (Brasil e Colômbia) para realização de testes adicionais. Embora o desenvolvimento de mecanismos de resistência em *S. agalactiae* ainda estejam em estudo, é possível que a população adulta suscetível e exposta a terapias concomitantes com antibióticos variados, incluindo penicilina possa estar em risco ao se contaminar com amostras de *S. agalactiae* de susceptibilidade reduzida à penicilina circulantes em nossa comunidade. Além disso, os dados argumentam para a vigilância contínua das características microbianas e uso criterioso de antibióticos na prática clínica. Contudo, a penicilina permanece como a escolha de primeira linha para a terapia de infecções por *S. agalactiae*.

Estudos anteriores demonstraram que uma proporção importante das infecções por *S. agalactiae* são polimicrobianas e adquiridas na rede hospitalar (Ho *et al.*, 2006).

Neste estudo foi observada uma taxa de infecção polimicrobiana de 24,5%, sendo verificada co-infecção com *Enterobacteriaceae* e bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Eterococcus faecalis*. Possivelmente foram co-transferidas de uma fonte endógena como os tratos gastrointestinal e/ou urinário. Estudos adicionais necessitam ser realizados para evitar a associação entre

infecções por *S. agalactiae* e condições médicas subjacentes (câncer, diabetes, etc). A emergência contínua de infecções invasivas de *S. agalactiae* entre adultos reforça a necessidade de estratégias de prevenção adequadas dirigidas a este grande grupo etário.

Vários estudos têm demonstrado a capacidade de formação de biofilme por *S. agalactiae* (Konto-Ghiorghi *et al.*, 2009; Rinaudo *et al.*, 2010). A formação de biofilme pelas amostras de *S. agalactiae* no período de 24h-48h pode ser observada para maioria das amostras estudadas. Contudo, o decréscimo na formação de biofilme após 48h, necessita ser esclarecido com um número maior de dados experimentais. Além disso, dados prévios com outras amostras bacterianas, incluindo *S. agalactiae* sugerem que fatores como pH, temperatura e fase de crescimento possam interferir na formação de biofilme (Ho *et al.*, 2013). Desta forma, ensaios estão em andamento para analisar a influência desses diferentes fatores na produção de biofilme por *S. agalactiae*.

Estudos adicionais são necessários a fim de explorar a associação de *S. agalactiae* e adultos imunocomprometidos em nossa comunidade. A emergência continuada de *S. agalactiae* causando infecções invasivas em adultos não gestantes reforça a necessidade da implantação de estratégias de prevenção dirigidas a esse grupo de pacientes.

## CONCLUSÕES

- a) Pacientes com câncer atendidos no INCA (Instituto Nacional do Câncer- Rio de Janeiro) apresentaram infecções por *S. agalactiae*;
- b) A maioria dos casos de infecções invasivas por *S. agalactiae* ocorreu em adultos entre 20 a 79 anos de idade com tumores sólidos;
- c) A maioria dos isolados de *S. agalactiae* foi proveniente de urina;
- d) A taxa de mortalidade nos pacientes oncológicos infectados por *S. agalactiae* foi de 34,2%;
- e) Amostras de *S. agalactiae* mostraram susceptibilidade reduzida à penicilina (2 µg/mL);
- f) As amostras de *S. agalactiae* foram moderadas a fracas produtoras de biofilme.

## REFERÊNCIAS

1. Adriaanse, A. H. ; Lagendijk, I. ; Muytjens, H. L. ; Nijhuis, J. G. ; Kollée, L. A. Neonatal early onset group B streptococcal infection. A nine-year retrospective study in a tertiary care hospital. **J Perinat Med.** 1996; 24(5): 531-8.
2. Armarolia, P. ; Villainb, P. ; Suoniob, E. ; Almonteb, M. ; Anttilac, A. ; Atkind S. W. ; Deanb, P. B. ; Koninge, H. J. ; Dillnerf , L. ; Herrerob, R. ; Kuipersg, E. J. ; Lansdorp-Vogelaare, I. ; Minozzia, S. ; Pacih, E. ; Regulai, J. ; Törnbergj, S. ; Segnana, N. European Code against Cancer, 4th Edition: Cancer screening. **Cancer Epidemiology** 39S .2015. S139–S152.
3. Baker, C. J. and Edwards; M.S. Group B streptococcal infections. In Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. Remington J.S. & Klein J.O. (eds). **Philadelphia, PA: W.B. Saunders.** 2001; pp. 1091–1156.
4. Bassetti, M. ; Righi, E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? Infectious disease complications encountered by the practicing hematologist. **American Society of Hematology.** 2013
5. Batista, R. P. ; Ferreira, C.R. *Streptococcus agalactiae* septicemia in a patient with diabetes and hepatic cirrhosis. **Autopsy Case Rep [Internet].** 2015; 5(4):35-43.
6. Bergal, A. ; Loucif, L. ; Benouareth, D. E. ; Bentorki, A. A. ; Abat, C. ; Rolain, J. M. Molecular epidemiology and distribuion of serotypes, genotypes and antibiotic resistance genes os *Streptococcus agalactiae* clinical isolates from Guelma, Algeria and Marseille, France. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2015.
7. Bhat, V. ; Gupta, S. ; Kelkar, R. ; Biswas, S. ; Khattry, N. ; Moiyadi, A. ; Bhat, P.; Ambulkar, R. ; Chavan, P. ; Chiplunkar, S. ; Kotekar, A. ; Gupta, T. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility patterns of clinical isolates in a tertiary care cancer center. **Indian J Med Paediatr Oncol.** 2016 . Jan-Mar;37(1):20-4.
8. Björnsdóttir, E. S. ; Martins, E. R. ; Erlendsdóttir, H . ; Haraldsson, G . ; Melo-Cristino, J . ; Kristinsson, K. G . ; Ramirez, M . Changing epidemiology of group B streptococcal infections among adults in Iceland: 1975-2014. **Clin Microbiol Infect.** 2016 Apr;22(4):379.e9-379.e16. Epub 2015 Dec 12.
9. Blancas, D. et al. Group B streptococcal disease in nonpregnant adults: incidence, clinical characteristics, and outcome. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2004.
10. Bodaszewska-Lubas, M. et al. Adherence of Group B Streptococci to Human Rectal and Vaginal Epithelial Cell Lines in relation to Capsular Polysaccharides as well as Alpha-like Protein Genes – Pilot Study. **Polish Journal of Microbiology.** 2013
11. Bodey, G. P. Emerging antimicrobial-resistant pathogens in the immunocompromised host **Curr Opin. Infect Dis.** 1995; 8:411-4.

12. Boswihi, S. ; Silva, J. ; Teixeira, P. Survival and biofilm formation of *Listeria monocytogenes* in simulated vaginal fluid: influence of pH and strain origin. **Fems Immunol Med Mic**. 2011. p. 62, v. 315-320.
13. Camello, T. C. F. ; Mattos-Guaraldi, A. L. ; Formiga, L. C. D. ; Marques, E. A. Non-diphtherial *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens of patients in a University Hospital, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian J Microbiol**. 2003 ; 34(1):39-44.
14. Camuset, G. ; Picot, S. ; Jaubert, J. ; Borgherini, G. ; Ferdynus, C. ; Foucher, A. ; Marza, J. ; Fels, O. ; Poyart, C. ; Poubeau, P. ; Gerardin, P. Invasive Group B Streptococcal Disease in Non-pregnant Adults, Reunion Island. **International Journal of Infectious Diseases**. 2015. 35 :46–50.
15. Casselas, J. M. Resistencia a los antibacterianos am América Latina: consecuencias para la infectologia. Rev. **Panam Salud Pública**. 2011. v.30.n.6,p.519-528.
16. CDC- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC. **MMWR Recomm Rep**. 2010.
17. Chaiwarith, R. ; Jullaket, W. ; Bunchoo, M. ; Nuntachit, N. ; Sirisanthana, T. ; Supparatpinyo, K. *Streptococcus agalactiae* in adults at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. **BMC Infect Dis** .2011. 11:149–156
18. Clinical and Laboratory Standars Institute. Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility testing; 26th Edition. CLSI document M100S. **Clinical and Laboratory Standars Institute**. 2016. Wayne, Pennsylvania USA.
19. Cornejo-Juárez, P. ; Vilar-Compte, D. ; García-Horton A. ; López-Velázquez, M. ; Namendys-Silva, S. ; Volkow-Fernández, P. Hospital-acquired infections at an oncological intensive care cancer unit: differences between solid and hematological cancer patients. **BMC Infectious Diseases** .2016. 16:274 .
20. Cornejo-Juárez, P. ; Vilar-Compte, D. ; García-Horton, A. ; López-Velázquez, M. ; Namendys-Silva, S. ; Volkow-Fernández, P. Hospital-acquired infections at an oncological intensive care cancer unit: differences between solid and hematological cancer patients. **BMC Infectious Diseases** .2016. 16:274
21. Corrêa, A. B. ; Silva, L. G. ; Pinto, T. C. ; Oliveira, I. C. ; Fernandes, F. G. ; Costa, N. S. ; Mattos, M. C. ; Francalanza, S. E. ; Bencherit, L. C. The genetic diversity and phenotypic characterization of *Streptococcus agalactiae* isolates from Rio de Janeiro, Brazil. Mem. **Inst. Oswaldo Cruz**. 2011. 106, 1002-1006.
22. Costerton, J. W. ; Stewart, P. S. ; Greenberg, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**. 1999; 284: 1318-1322.
23. Crespo-Ortiz, M. P. ; Castañeda-Ramirez, C R. ; Recalde-Bolaños, M. ; Vélez-Londoño, J D. Emerging trends in invasive and noninvasive isolates of *Streptococcus agalactiae* in a Latin American hospital: a 17-year study. **BMC Infectious Diseases**. 2014, 14:428.



24. D'Urzo, N. ; Martinelli, M. ; Pezzicoli, A. ; De Cesare, V. ; Pinto, V. ; Margarit, I. ; Telford, J. L. ; Maione, D. Acidic pH strongly enhances in vitro biofilm formation by a subset of hypervirulent ST-17 *Streptococcus agalactiae* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. v.80.p.2176-2185.
25. Dagnew, A. F. ; Cunnington, M. C. ; Dube, Q. ; Edwards, M. S. ; French, N. ; Heyderman, R. S. ; Madhi, S. A. ; Slobod, K. ; Clemens, S. A. Variation in reported neonatal group B streptococcal disease incidence in developing countries. *Clin Infect Dis.* 2012. 55:91–102 16.
26. Doare, K. L. ; Heath, P. T. An overview of global GBS epidemiology. 2013. *Vaccine.* v.31,p D7-D12.
27. Duarte, R. S. ; Bellei, B. C. ; Miranda, O.P. ; Brito, M. A. ; Teixeira, L. M. Distribution of antimicrobial resistance and virulence-related genes among Brazilian group B streptococci recovered from bovine and human sources. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2005. n. 49, p.97-103.
28. Dutra, V. G. ; Alves, V. M. N. ; Olendzki, A. N. ; Dias, C. A. G. ; Bastos, A. F. A. B. ; Santos, G. O. ; Amorim, E. L. T. ; Souza, M. A. B. ; Santos, R. ; Ribeiro, P. R. S. ; Fontes, C. F. ; Andrey, M. ; Magalhães, K. ; Araujo, A. A. ; Paffadore, L. F. ; Marcone, C. ; Murta, E. F. C. ; Fernandes, P. C. ; Raddi, M. S. G. ; Marinho, P. S. ; Bornia, R. B. G. ; Palmeiro, J. K. ; Dalla-Costa, L. M. ; Pinto, T. C. A. ; Botelho, A. C. N. ; Teixeira, L. M. ; Francalanza, S. E. L. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. *BMC Infections Diseases.* 2014. V.14, n. 323.
29. Ebrahimi, A. ; Moatamedi, A. ; Lotfalian, S. ; Mirshokrael, P. Biofilm formation hemolysin production and antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus agalactiae* isolates from the mastitis milk of dairy cows in Shahrekord district, Iran. *Veterinary Research Forum.* 2013. n.4. p.269-272,2013.
30. Edwards, M. S. ; Baker, C. J. Group B streptococcal infections in elderly adults. *Clin Infect Dis.* 2005. 41: 839-847,.
31. Elting, L. S. ; Bodey, G. P. ; Fainstein, V. Polymicrobial septicemia in the cancer patient. *Medicine.* 1986; 65(4):218-25
32. Eren, A. ; Kucukercan, M. ; Oguzoghu, N. ; Unal, N. ; Karatele, A. The carriage of group B Streptococcal in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborn and serotype distribution. *Turk. J. Pediatr.* 2005; 13: 28-33.
33. Escolano, S. S. et al. Infección tardía por estreptococo grupo B en gemelos nacidos mediante cesárea. *An Pediatr.* 2014.
34. Evangelista, M. L. B. ; Freitas, F. T. M. Group B streptococcus neonatal infection in an intensive care unit in Brazil: high fatality and missed opportunities for antibiotic prophylaxis. *Braz J Infect Dis.* 2015.v.19 n.1 Salvador Jan./Feb.
35. Farley, M. M. ; Harvey, C. ; Stull, T. ; Smith, J. D. ; Schuchat, A. ; Wenger, J. D. A population-based assessment of invasive disease due to group B Streptococcus in nonpregnant adults. *N Engl J Med.* 1993; 328:1807–11. 4.

36. Farley, M. M. Group B. Streptococcal disease in nonpregnant adults. **Clin Infect Dis.** 2001; 33:556–61.
37. Fiolo, K. ; Zanardi, C. E. ; Salvadego, M. Infection rate and *Streptococcus agalactiae* serotypes in samples of infected neonates in the city of Campinas (São Paulo), Brazil. **Rev Bras Ginecol Obstet.** 2012 ; 34:544-9.
38. Gaynes, R. Health care--associated bloodstream infections: a change in thinking. **Ann Intern Med.** 2002; 137(10):850-1.
39. Guimarães, D. O. ; Momesso, L. S. ; Pupo, M. T. Antibióticos: importância e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim.** 2010. Nova, v. 33 , n. 3, p.667-679.
40. Halker, E. ; Wey, S. B. Infecção hospitalar da corrente sanguínea. In: Veronesi. Focaccia R. Ed. Tratado de Infectologia. **Atheneu** .1996. São Paulo.
41. Hansen, S. M. ; Uldbjerg, N. ; Kilian, M. ; Sorensen, U. B. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. **J Clin Microbiol.** 2004. 42, 83–89
42. Ho, Y. ; Li, C. ; Yu, C. ; Lin, Y. ; Wu, C. ; Harn, I. ; Tang, M. ; Chen, Y. ; Shen, F. ; Lu, C. ; Tsai, T. ; Wu. **J Med Microbiol Immunol.** 2013; 202:105–115.
43. Honig, E. ; Mouton, J. W. ; Van der Meijden, W. I. The epidemiology of vaginal colonization with group B Streptococci in a sexually transmitted disease clinic. **Obstet. Gynecol.** 2002 ; 177-180.
44. HPA. Pyogenic and non-pyogenic streptococcal bacteremia, England, Wales and Northern Ireland: 2009. Health protection report, infection reports . 2010. v. 4.
45. Huang, P. Y. et al. Group B streptococcal bacteremia in non-pregnant adults. **J Microbiol Immunol Infect.** 2006.
46. Hughes, W. T. ; Flynn, P. M. ; Williams, B. G. Nosocomialinfection in patients with neoplastic diseases. In: Mayall CG (ed) Hospital epidemiology na disinfection control ,1stedn. **William sand Wilkins.** 1996. pp 618–631. Maryland.
47. Iijima, S. ; Shirai, M & Ohzeki T. Severe, widespread vasculopathy in late-onset group B streptococcal meningitis. **Pediatr. Int.** 2007; 49 (6):1000-1003.
48. Jacobsson, K. A novel family of fibrinogen-binding proteins in *Streptococcus agalactiae*. **Vet Microbiol.** 2003.
49. Johri, A. K. ; Paoletti, L. C. ; Glaser, P. ; Dua, M. ; Sharma, P. K. Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. **Nat Ver Microbiol.** 2006. v. 4, p. 932-942
50. Katsikogianni, M. ; Missirlis, Y. F. Consige review of mechnisms of bacterial adhesion to biomaterials and techniques used inestimating bacteria-material interaction. **Eur Cells Mat.** 2004. v.8.p.37-57.

51. Kimura, K. ; Suzuki, S. J. ; Wachino, H. ; Kurokawa, K. ; Yamane, N. ; Shibata, N. ; Nagano, H. ; Kato, K. ; Shibayama. ; Arakawa, Y. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. **Antimicrob. Agents Chemother.** 2008. v. 52, p. 2890-2897.
52. Klastersky, J. ; Aoun, M. Opportunistic infections in patients with cancer. **Ann Oncol.** 2004 ;15 Suppl 4 : iv 329-35. Review.
53. Kong, F. ; Lambertsen, L. M. ; Slotved, H. C. ; Ko, D. ; Wang, H. ; Gilbert, G. L. Use of phenotypic and molecular serotype identification methods to characterize previously non serotypeable group B streptococci. **J Clin Microbiol.** 2008. v. 46, n. 8, p. 2745-2750.
54. Konto-Ghiorghi, Y. ; Mairey, E. ; Mallet, A. ; Duménil, G. ; Caliot, E. ; Trieu,-Cuot, P. ; Dramsi, S. Papel duplo para Pilus na adesão as células epiteliais e formação de biofilme em *Streptococcus agalactiae*. **Plos Pathogens.** 2009. 5 (5), e1000422.
55. Lancefield, R. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. **J Exp Med.** 1933
56. Lanotte, P. ; Perivier, M. ; Haguenoer, E. ; Mereghetti, L. ; Burucoa, C. ; Clavecol, S. ; Atanassov, C. Proteomic Biomarkers Associated with *Streptococcus agalactiae* invasive genogroups. **Plos One.** 2013. v. 8, n.1,p.1-11.
57. Larppanichpoonphol, P. ; Watanakunakorn, C. Group B streptococcal bacteremia in nonpregnant adults at a community teaching hospital. **South Med J.** 2001. 94:1206–1211.
58. Liu, G. ; Zhang, W. ; Lu, C. **J Bacteriol.** 2012 Dec; 194(23): 6653.
59. Longtin, J. ; Vermeiren, C. ; Shahinas, D. ; Tamber, G. S. ; McGeer, A. ; Low, D. E. ; Katz, K. ; Pillai, D. R. Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy. **Antimicrob Agents Chemothe.** 2011.55:2983–2985.
60. Madzivhandila, M. ; Adrian, P. V. ; Cutland, C. L. ; Kuwanda, L. ; Schrag, S. J. ; Madhi, S. A. Serotype distribution and invasive potential of group B *Streptococcus* isolates causing disease in infants and colonizing maternal-newborn dyads. **Plos One.** 2011; 6: 17861.
61. Magiorakos, A. P. ; Srinivasan, A. ; Carey R. B. ; Carmeli, Y. ; Falagas, M. E. ; Giske, C. G. ; Harbarth, S. ; Hindler, J. F. ; Kahmeter, G. ; Olsson-Liljequist, B. ; Paterson, D. L. ; Rice, L. B. ; Stelling, J. ; Struelens, M. J. ; Vatapoulos, A. ; Weber, J. T. ; Monnet, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: na internacional expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin Microbiol Infect.** 2012. v. 18(3), p.268-281.
62. Maisey, H. C., Doran, K. S., Nizet, V. Recent advances in understanding the molecular basis of group B *Streptococcus* virulence. **Expert Rev Mol Med.** v. 10, p. E27, 2008.
63. Martinez, G. ; Harel, J. ; Lacouture, S. ; Daignault, D. ; Gottschalk, M. Charaterization of *Streptococcus agalactiae* isolates of bovine and human origin by randomly amplified polymorphic DNA analysis. **J Clin Microbiol.** 2000. v.38, p.71-78.

64. Meyer, D. K. ; Reboli, A. C. Other Coryneform Bacteria and Rhodococci. In: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE. Eds. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 2009. 7th ed, New York: Churchill-Livingstone.
65. Miura, E. ; Martin, M.C. Group B streptococcal neonatal infections in Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. 2001; 43:243-6.
66. Montassier, E.; Batard, E.; Gastinne, T.; Potel, G. Recent changes in bacteremia in patients with cancer: a systematic review of epidemiology and antibi-otic resistance. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 2013; 32:841–50
67. Moraes, M. N. ; Silveira, W. C. ; Teixeira, L. E. M. ; Araújo, I. D. Mecanismos de adesão aos biomateriais. **Ver. Med. Minas Gerais**. 2013. v.23.p.99-104.
68. Morozumi, M. ; Wajima, T. ; Takata, M. ; Iwata, S. ; Ubukata, K. Molecular characteristics of Group B streptococci isolated from adults with invasive infections in Japan. **J Clin Microbiol**. 2016 Aug 24.
69. Nagano, N. ; Nagano, Y. ; Toyama, M. ; Kimura, K. ; Shibayama, K. ; Arakawa, Y. Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility. **J Clin Microbiol**. 2014.52:3406–3410
70. **National Institutes Health-Investigação sobre biofilmes microbianos**. 2002. Disponível em:<https://grants.nih.gov/guide/pa-files/PA-03-047.html>. Acesso em: 04/11/2016
71. Nizet, V.; Rubens, C. Pathogenic Mechanisms and virulence factors for group B streptococci. **Asociación Argentina de Microbiología**. 2002. n. 14.
72. Olson, M. E. ; Ceri, H. ; Morck, D. W. ; Buret, A. G. ; Read, R. R. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. **Can J Vet Res**. 2002. v.66.p.86-92.
73. Oteo, J.; Aracil, B.; Alós, JI.; Gómez-Garcés. Bacteriemias significativas por *Corynebacterium amycolatum*: un patógeno emergente. **Enferm Infecc Microbiol Clin**. 2001;19(3):103-6
74. Pittet, D. ; Tarara, D. ; Wenzel, R. P. Nosocomial bloodstream infection in critical ill patients. **JAMA**. 1994; 271:1598-601
75. Pittet, D. Nosocomial bloodstream infections In: Wenzel PR. Ed. Prevention and Control of Nosocomial Infections. **Williams & Wilkins**. 1997; 3a ed, Baltimore, Maryland:.
76. Presentation, C. Perinatal/neonatal late-onset group B streptococcal infection in identical twins: Insight to disease pathogenesis. **J Perinatol**. 2002.
77. Radetsky, M. Pediatric infectious disease emergencies. **Curr Opin Pediatr**. 1994; Jun; 6 (3):310-6. Review.
78. Rie, A. ; Ayumi, K. ; Yusuke, T. ; Kazuhiro, T. ; Hajime, F. ; Kazumasa, H. ; Shunei, K. Two Case Reports of Group B Streptococcal Infective Endocarditis Complicated by Embolism. Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital, Japan. **Intern Med** .2015.54: 2333-2336

79. Riegel P. Bacteriological and clinical aspects of *Corynebacterium*. **Ann Biol Clin**. 1998; 56 (3):285-96.
80. Rinaudo, C. D. ; Rosini, R. ; Galeotti, C. L. ; Berti, F. ; Necchi, F. ; Reguzzi, V. Specific Involvement of Pilus Type 2a in Biofilm Formation in Group B Streptococcus. **Plos One**. 2010. v.5(2).p.9216.
81. Rizvi, M. ; Khan, F. ; Raza, A. ; Shukla, I. ; Malik, A. ; Rizvi, SAR. Coryneformas the opportunistic pathogens – An emerging challenge for immunocompetent individuals. **American-Eurasian J of Scientific Research**. 2011 ;6(3):165-71.
82. Rolston, K.V. ; Bodey, G.P. ; Safdar, A. Polymicrobial infection in patients with cancer: an underappreciated and underreported entity. **Clin Infect Dis**. 2007; 45 (2):228-33. Review.
83. Schrag, S. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic profilaxis. **N. Engl. J Med**. 2000.
84. Schubert, A. et al. A fibrinogen receptor from Group B Streptococcus interacts with fibrinogen by repetitive units with novel ligand binding sites. **Mol Microbiol**. 2002.
85. Schuchat, A. Group B Streptococcus. **Lancet**. 1999; 353: 51-56.
86. Schuchat, A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. **Clin Microbiol Rev**. 1998.11, 497–513.
87. Schwartz, B. ; Schuchat, A. ; Oxtoby, M. J. ; Cochi, S. L. ; Hightower, A. ; Broome, C.V. Invasive group B streptococcal disease in adults: a population-based study in metropolitan Atlanta. **JAMA**. 1991; 266:1112–4. 3.
88. Sendi, P. ; Johansson, L. ; Norrby-Teglund, A. Invasive group B Streptococcal disease in non-pregnant adults: are view with emphasis on skin and soft-tissue infections. **Infection**. 2008. 36:100–111
89. Skoff, T. H. ; Farley, M. M. ; Petit, S. ; Craig, A. S. ; Schaffner, W. ; Gershman, K. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990-2007. **Clin Infect Dis**. 2009; 49:85–92. 5.
90. Slotved, H. C. ; Kong, F. ; Lambertsen, L. ; Sauer, S. & Gilbert, G. L. Serotype IX, a proposed Newb Serotype. **J Clin Microbiol**.2007. v.45, n.9, p.2929-2936.
91. Smith, E. M. ; Khan, M. A . ; Reingold, A .Watt, J. P . Group B streptococcus infections of soft tissue and bone in California adults, 1995-2012. **Epidemiol Infect**. 2015. Nov;143(15):3343-50.
92. Soares, G. C. T. Prevalence of Group B Streptococcus serotypes III and V in pregnant women of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. 2013. v. 44, n. 3, p. 869-872.

93. Tan, C. K. ; Ulett, K. B. ; Steele, M. ; Benjamin, W. H. ; Ulett, G. C. Prognostic value of semi-quantitative bacteriuria counts in the diagnosis of group B Streptococcus urinary tract infection: a 4-year retrospective study in adult patients. **BMC Infect Dis.** 2012.12:273–282
94. Vaciloto, E. ; Richtmann, R. P. ; Fiod, C. H. ; Kusano, E. J. ; Almeida, M. F. ; Amaro, E.R. A survey of the incidence of neonatal sepsis by Group B Streptococcus during a decade in a Brazilian maternity hospital. **Braz J Infect Dis.** 2002; 6:55-62.
95. Valls-Pascual, È. ; Alegre-Sancho, J. J. ; Ivorra-Cortés, J. ; Román-Ivorra, J. A. ; Fernández-Llanio-Comella, N. ; Chalmeta-Verdejo, I. ; Muñoz-Gil, S. ; Senabre-Gallego, J. M. Infección articular por *Streptococcus agalactiae* en adultos inmunocompetentes: presentación de dos casos. **Reumatol Clin.** 2008; 4 (4):155-8.
96. Van der Mee-Marquet, N. ; Domelier, A. S. ; Salloum, M. ; Violette, J. ; Arnault, L. ; Gaillard, N. ; Bind, J. L. ; Lartigue, M. F. ; Quentin, R. Bloodstream infection study group of the Réseau des Hygienistes de la Région Centre. Molecular characterization of temporally and geographically matched *Streptococcus agalactiae* strains isolated from food products and bloodstream infections. **Foodborne Pathog Dis.** 2009.V. 6, p.1177-1183.
97. Velasco, E. ; Thuler, L. C. S. ; Martins, C. A. S. Nucci, M. ; Dias, L. M. C. ; Gonçalves, V. M. S. C. Epidemiology of bloodstream infection at a cancer center. **São Paulo Méd J/Rev Paul Méd.** 2000 ;118:131-8.
98. Velasco, E. ; Thuler, L. C. S. ; Martins, C. A. S. ; Dias, L. M. C. ; Gonçalves, V. M. S. C. Risk factors for bloodstream infections at a cancer center. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1998a ;17:58790.
99. Verani, J. R. Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers Control for Disease and Prevention. MMWR Recom. Rep. 2010.
100. Yadegarynia, D. ; Fatemi, A. ; Mahdizadeh, M. ; Movahhed, R. K. ; Alizadeh, M. A. Current spectrum of bacterial infections in patients with nosocomial fever and neutropenia Caspian. **J Intern Med.** 2013. Summer; 4(3): 698–701.
101. Yancey, M. K. ; Duff, P. ; Clark, P. ; Kurtzer, T. ; Frentzen, B. H. ; Kulbillis, P. Peripartum infection associated with vaginal group B Streptococcal colonization. **Obstet. & Gynecol.** 1994; 84: 816-819.
102. Yu, H. W.; Lin, H. C.; Yang, P. H. Group B streptococcal infection in Taiwan: maternal colonization and neonatal infection. **Pediatrics Neonatol.** 2011; 52:190e5.
103. Zaleznik, D. F. Invasive disease due to Group B Streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. **Clin. Infect Dis.** 2000.
104. Zinner S. H. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria. **Clin Infect Dis.** 1999; 29 (3):490-4.
105. Herbert, A. M. ; Beveridge, C. J. E. ; Saunders, N. J. Bacterial virulence factors in neonatal sepsis: group B streptococcus. **Curr Opin Infect Dis.** v. 17, p. 225-229, 2004.

## ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Epidemiologia, Diagnóstico e Virulência de Estreptococos do grupo B

**Pesquisador:** PRESCILLA EMY NAGAO FERREIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 04124313.0.0000.5259

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

**Patrocinador Principal:** FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ  
Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 242.872

**Data da Relatoria:** 13/03/2013

**Apresentação do Projeto:**

Determinação do grupo e tipo sorológico de EGB isolados de pacientes oncológicos.

**Objetivo da Pesquisa:**

Estudar o perfil de susceptibilidade das amostras de EGB aos agentes antimicrobianos utilizando o método do disco, bem como a formação de biofilme por diferentes amostras clínicas de EGB e indução de apoptose em células eucarióticas.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

As amostras dos EGB já estão armazenadas no laboratório em um freezer -70.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma pesquisa de bancada, sem o envolvimento de pacientes ou voluntários.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foi justificada a ausência de apresentação do TCLE, explicando que apenas os prontuários dos pacientes serão utilizados. A folha de rosto foi assinada pelo diretor do IBRAG.

**Recomendações:****Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências.

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

**Bairro:** Vila Isabel

**CEP:** 20.551-030

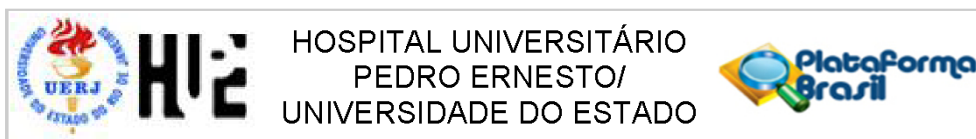
**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2868-8253

**Fax:** (21)2264-0853

**E-mail:** cep-hupe@uerj.br

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 10 de Abril de 2013

---

**Assinador por:**  
**WILLE OIGMAN**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



**ANEXO B** - Comprovação do artigo científico publicado.

Artigo: Infecção por *Streptococcus agalactiae* em pacientes com câncer: um estudo de cinco anos.

Embora a maior carga de infecções por *Streptococcus agalactiae* tenha sido relatada em países industrializados, estudos sobre a caracterização e epidemiologia ainda são limitados nos países em desenvolvimento e a implementação de estratégias de controle permanece indefinida. O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e microbiológicos das infecções por *S. agalactiae* em pacientes com câncer tratados no INCA, no Rio de Janeiro. Revisamos os registros clínicos e laboratoriais de todos os pacientes com câncer identificados como tendo doença de *S. agalactiae* invasiva durante 2010-2014. Os isolados foram identificados por análise bioquímica e testados quanto à suscetibilidade antimicrobiana. Um total de 263 estirpes de *S. agalactiae* foram isoladas de pacientes com câncer que tinham sido clinicamente e microbiologicamente classificados como infectados. As infecções por *S. agalactiae* foram detectadas principalmente em adultos com tumores sólidos (94%) e / ou pacientes que utilizaram dispositivos médicos permanentes (77,2%) ou submetidos a procedimentos cirúrgicos (71,5%). As taxas de mortalidade (mortalidade intra-hospitalar durante 30 dias após a identificação de *S. agalactiae*) relacionadas com infecções invasivas de *S. agalactiae* (n = 28; 31,1%) para a categoria específica de doenças neoplásicas foram: gastrointestinal (46%), (25%), pulmão (11%), hematológico (11%), ginecológico (4%) e geniturinário (3%). Verificou-se também um aumento da resistência de *S. agalactiae* à eritromicina e clindamicina e à emergência de isolados menos sensíveis à penicilina. Um número notável de casos de infecções invasivas devido a cepas de *S. agalactiae* foi identificado, principalmente em pacientes adultos. Nossos achados reforçam a necessidade de medidas de controle de *S. agalactiae* no Brasil, incluindo pacientes com câncer.



ORIGINAL ARTICLE

## *Streptococcus agalactiae* infection in cancer patients: a five-year study

B. A. S. Pinheiro<sup>1</sup> · C. A. S. Martins<sup>2</sup> · J. C. Mendonça<sup>1</sup> · P. S. D. Miranda<sup>1</sup> · G. F. Sanchez<sup>3</sup> · A. L. Mattos-Guaraldi<sup>3</sup> · P. E. Nogueira<sup>1</sup>

Received: 18 December 2015 / Accepted: 25 February 2016  
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

**Abstract** Although the highest burden of *Streptococcus agalactiae* infections has been reported in industrialized countries, studies on the characterization and epidemiology are still limited in developing countries and implementation of control strategies remains undefined. The aim of this retrospective study was to assess the epidemiological, clinical, and microbiological aspects of *S. agalactiae* infections in cancer patients treated at a Reference Brazilian National Cancer Institute – INCA, Rio de Janeiro, Brazil. We reviewed the clinical and laboratory records of all cancer patients identified as having invasive *S. agalactiae* disease during 2010–2014. The isolates were identified by biochemical analysis and tested for antimicrobial susceptibility. A total of 263 strains of *S. agalactiae* were isolated from cancer patients who had been clinically and microbiologically classified as infected. *S. agalactiae* infections were mostly detected among adults with solid tumors (94 %) and/or patients who have used indwelling medical devices (77.2 %) or submitted to surgical procedures (71.5 %). Mortality rates (in-hospital mortality during 30-days after the identification of *S. agalactiae*) related to invasive *S. agalactiae* infections ( $n = 28$ ; 11.1 %) for the specific category of neoplasia diseases were: gastrointestinal (46 %), head and

neck (25 %), lung (11 %), hematologic (11 %), gynecologic (4 %), and genitourinary (3 %). We also found an increase in *S. agalactiae* resistance to erythromycin and clindamycin and the emergence of penicillin-less susceptible isolates. A remarkable number of cases of invasive infections due to *S. agalactiae* strains was identified, mostly in adult patients. Our findings reinforce the need for *S. agalactiae* control measures in Brazil, including cancer patients.

### Introduction

*Streptococcus agalactiae* is a common colonizer of the gastrointestinal and urogenital tracts of up to 40 % of healthy individuals. However, under certain circumstances, it may turn into a life-threatening pathogen, causing sepsis and meningitis in newborn infants [1]. *S. agalactiae* is also responsible for invasive infections in the elderly and adults with underlying diseases [2]. After 1990, *S. agalactiae* screening and risk-based intrapartum chemoprophylaxis significantly reduced mortality to 5 % in industrialized countries [3]. Nowadays, regardless of epidemiological changes, *S. agalactiae* remains as a relevant pathogen of severe infections in both neonates and adults. The estimated mortality attributed to *S. agalactiae* severe infections in the elderly is more than 50 % [4]. Another increasing concern is the potential emergence of tolerance to penicillin [5], the drug of choice for prophylaxis and therapy of *S. agalactiae* infections, in addition to resistance to clindamycin and erythromycin commonly used in patients with history of beta-lactams allergy [3].

Although the highest burden of *S. agalactiae* infections has been reported in industrialized countries, studies on the characterization and epidemiology of *S. agalactiae* are still limited in developing countries, and implementation of control strategies remains undefined due to the lack of supporting studies

✉ P. E. Nogueira  
 pnogueira@inca.gov.br; pnogueira@pq.cnpq.br

<sup>1</sup> Roberto Alcântara Herikey Institute, Rio de Janeiro State University - UERJ, Rio de Janeiro, RJ-11600-000RAG, Rua São Francisco Xavier, 524 - P.O.C 2º andar sala 501B- Maracanã, 20550-405 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>2</sup> National Cancer Institute – INCA, Rio de Janeiro, RJ-HECTAIC3, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>3</sup> Faculty of Medical Sciences, Rio de Janeiro State University - UERJ, Rio de Janeiro, RJ-LINCCPCM, Rio de Janeiro, Brazil

[6, 7]. In the available literature, there was found only a recent report dealing with some epidemiological aspects of invasive and noninvasive infections caused by *S. agalactiae* in cancer patients [8]. The aim of this retrospective study was to assess the epidemiological, clinical, and microbiological aspects of *S. agalactiae* infections in cancer patients treated at a Reference Brazilian National Cancer Institute (Instituto Nacional do Câncer - INCA), Rio de Janeiro, Brazil, during a five-year period (from January, 2010 to December, 2014).

## Materials and methods

### Study setting and patients

The Instituto Nacional do Câncer - INCA is located at the metropolitan area of Rio de Janeiro and is a Brazilian reference center coordinated by the Ministry of Health (MS/CONPREV) for cancer prevention and control of the country. INCA beds ( $n=364$ ) are distributed in the following units: HC1 (200 beds), HC2 (90 beds), HC3 (60 beds) units INCA, in addition to the Bone Marrow Transplantation Unit (14 beds). During the last five years, 717,208 medical appointments, 76,962 hospital admissions, and 74,332 surgical procedures were attended at INCA.

Information on cases of infection due to *S. agalactiae* was collected from the Laboratory of Microbiology records and clinical-epidemiological data captured from the Joint

Commission of Infection Control and Surveillance files, during a five-year period (from January, 2010 to December, 2014). The hospitalized patients were monitored by at least one member of the HICC as a part of the antimicrobial vigilance routine through daily microbiology laboratory charts. Ambulatory patients were identified by the dressing nurses committee, catheter ambulatory (for both children and adults), and bacteriological charts.

*Streptococcus agalactiae* strains were obtained from clinical sites in which infection was suspected. The patients with positive cultures were interpreted as infected when cultures derived from a normally sterile site associated with a febrile clinical illness, in which there was a suspicion of infection, and the physician considered it clinically significant to immediately start a specific antimicrobial therapy. Blood cultures were always obtained in pairs, wherein at least one of the samples was collected through the central venous catheter, if present. A positive urinary culture was considered as significant independently of the bacterial count in the presence of local (dysuria, polyuria) or systemic signs of infection; pyuria was only required in non-neutropenic patients. Respiratory tract infections were defined with the presence of progressive pulmonary infiltrate, consolidation, or cavitary lesion, observed after the assessment of thoracic radiographs. Febrile neutropenic patients with initial thoracic normal radiograph, the emergence of pulmonary infiltrate during the recovery of bone marrow was considered as pneumonia. Tracheal secretions in intubated patients, sputum or tracheal aspirations in

**Table 1** Clinical characteristics of 263 cancer patients infected by *Streptococcus agalactiae* attended in a Reference Center - INCA, Rio de Janeiro, Brazil during a five-year period (2010–2014)

Characteristics	Underlying malignancy	
	Solid tumours ( $n=248$ )	Hematologic malignancy ( $n=15$ )
<b>Gender and age</b>		
Male	125	9
Female	123	6
<b>Children</b>		
Neutropenia	6	1
<b>Indwelling medical devices</b>		
CVC	31	4
Nasogastric probe	44	0
Epidural catheter	17	0
Urinary catheter	101	6
<b>Treatments</b>		
Tracheostomy	38	0
Radiotherapy	105	0
Chemotherapy	63	0
Transfusion	40	0
Surgical procedures	182	6
<b>GHS intravenous isolates</b>		
Blood	14	2
Catheter tips	5	0

non-intubated patients were considered as positive if they were associated with clinical or radiological signs that indicated an infection. Protected sampling was not performed in bronchoscopy [9]. Invasive infection was defined as isolation of *S. agalactiae* from blood or another usually sterile site [e.g., cerebrospinal fluid (CSF), joint, bone, and urine].

Data collected for epidemiologic analysis included age, sex, and year of presentation; clinical description included type of infection, anatomic sites, underlying disease, comorbidities and antimicrobial treatment, and outcome.

### Ethics

The study protocol was approved by the Institutional Ethic Commission, Instituto Nacional do Câncer (INCA)/Rio de Janeiro Pedro Ernesto Hospital University (CONEP - CAAE: 04124313.0.0000.5259).

### Microbiological analysis

*Streptococcus agalactiae* clinical isolates were identified by conventional tests based on hemolysis, colony morphology, catalase reaction, biochemical tests, automatized methods (Vitek 2XL, bioMérieux system), and by the Streptococcal Grouping Kit (Oxoid) [10]. Antimicrobial susceptibility was tested for the following agents: penicillin (10 U), ampicillin (10 µg), linezolid (30 µg), vancomycin (30 µg), clindamycin (2 µg), ceftazolin (30 µg), tetracycline (30 µg), erythromycin (15 µg), ciprofloxacin (5 µg), moxifloxacin (5 µg), and norfloxacin (10 µg). Minimum inhibitory concentration (MIC) interpretive standards proposed by the Clinical and Laboratory Standards Institute were used (CLSI, 2015) [11]. Because of the absence of accepted breakpoints obtained by the disk diffusion method for *S. agalactiae*, the breakpoints for *Staphylococcus aureus* were considered in the cases of ceftazolin and moxifloxacin, while the breakpoints for *Enterococcus* spp. were considered in the cases of ciprofloxacin and norfloxacin.

## Results

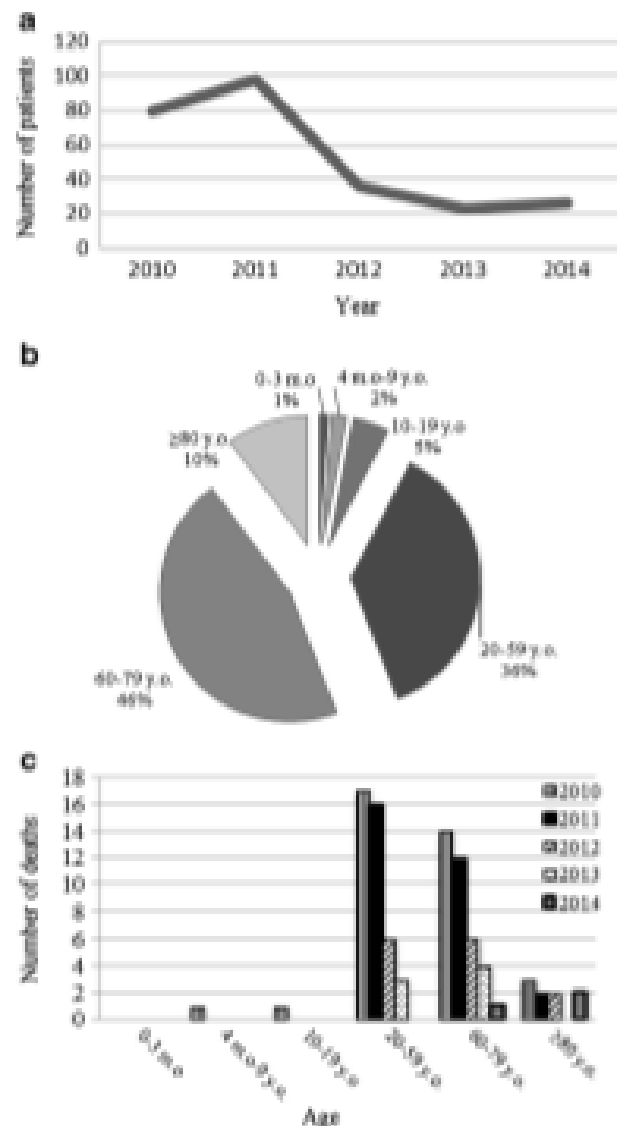
### Cases of *S. agalactiae* infections in cancer patients

A total of 263 *S. agalactiae* isolates were identified. Table 1 shows *S. agalactiae* infections among patients with solid tumors (94 %) and hematologic disorders (6 %) presenting the following underlying conditions: use of indwelling medical devices (77.2 %), surgical (71.5 %), transfusion (15.2 %), and tracheostomy (14.4 %) procedures in addition to radiotherapy (39.9 %), chemotherapy (24 %), and neutropenia

(2.7 %). *Streptococcus agalactiae* intravenous infection occurred mostly among patients with solid tumors (7.2 %).

A higher occurrence (67.7 %) of infection due to *S. agalactiae* was observed between 2010 and 2011 (Fig. 1a). Proportions of patients with infection due to *S. agalactiae* included 125 males and 123 nonpregnant females (Table 1), mostly in the following age ranges: 20 to 59 (36 %) and 60 to 79 (46 %) years old (Fig. 1b).

In addition to urinary tract infections (55.5 %), *S. agalactiae* ( $n=263$ ) strains were recovered from several other clinical sites, such as tracheal aspirates (10.3 %), soft tissue (9.5 %), lung (8.4 %), CSF (0.4 %), anal/vaginal



**Fig. 1** Incidence of invasive *Streptococcus agalactiae* disease among nonpregnant adults with cancer: **a** Annual distribution of *S. agalactiae* cases of infection over the five-year period of study (2010–2014). **b** *S. agalactiae* invasive infections distributed by age of isolation. **c** Number of deaths of cancer patients infected by *S. agalactiae*

exudates (3.8 %), and other sources (4.5 %). *Streptococcus agalactiae* was also related to intravenous infections (7.6 %), including catheter-related infections (1.9 %). In some opportunities (24.5 %), *S. agalactiae* strains were concomitantly found with *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, and/or *Enterococcus faecalis* (Table 2).

The following risk factors for *S. agalactiae* infections in this study were predominantly observed: smoking (39 %), alcohol abuse (31 %), malnutrition (24 %), arterial hypertension (8 %), urologic disease (5 %), diabetes mellitus (5 %), obesity (4 %), and pulmonary disease (3 %). In most opportunities, there were observed several of the different types of risk factors described above for the INCA patients.

#### Deaths of cancer patients with infection due to *S. agalactiae*

Data presented in Fig. 1c and Table 3 show the total number per year of deaths of cancer patients with infection due to *S. agalactiae* distributed by age and clinical sites, respectively. The overall mortality for cancer patients was 34.2 % (90/263). Although *S. agalactiae* infection is typically considered a common cause of death in neonates, for cancer patients, the mortality was predominantly observed among adult patients ranging from 20 to 79 years of age: 42 adults (20–59 years old; 46.7 %) and 46 elderly (>60 years old; 51.1 %). Death of children and teenagers (2.22 %) occurred in two patients with infection due to *S. agalactiae*, both using indwelling medical devices: one with acute lymphocytic leukemia (5 years old) and another with osteosarcoma (16 years old). There were no cases of in-hospital deaths of neonates (0–3 months) during this study. Interestingly, death occurred mostly (66.7 %) in patients with tracheal infections, followed by lung (54.5 %), bloodstream (45 %; including 5 % catheter-related infections),

vaginal (40 %), urinary tract (24.7 %), and soft tissues (24 %), in addition to other sources (41.7 %) (Table 3).

Mortality rates (in-hospital mortality during 30 days after the identification of *S. agalactiae*) related to invasive *S. agalactiae* infections ( $n=28$ ; 31.1 %) for the specific category of neoplastic diseases were: gastrointestinal (46 %), head and neck (25 %), lung (11 %), hematologic (11 %), gynecologic (4 %), and genitourinary (3 %) (Fig. 2c).

#### Antibiotic usage

Different antimicrobial agents used for the treatment of cancer patients with *S. agalactiae* infections and resistance spectra of microorganisms are exhibited in Table 4. Microorganisms tested were found to be 100 % sensitive to penicillin G, ampicillin, moxifloxacin, linezolid, and vancomycin. *S. agalactiae* strains expressing resistance for the antibiotics used in therapy were observed: 94.8 % for tetracycline (MIC values from 8 to 16  $\mu\text{g/ml}$ ), 8.4 % to clindamycin (MIC > 1  $\mu\text{g/ml}$ ), 38.5 % norfloxacin (MIC values from 8 to 16  $\mu\text{g/ml}$ ), 2.7 % to erythromycin (MIC > 1  $\mu\text{g/ml}$ ), 2.1 % to ciprofloxacin (MIC = 5  $\mu\text{g/ml}$ ), 1.3 % ceftazolin (MIC = 32  $\mu\text{g/ml}$ ). Among the total isolates, 2.7 % were concurrent resistance to both clindamycin and erythromycin.

In this study, we observed an increase of MIC values to penicillin of *S. agalactiae* strains from 0.03 to 2  $\mu\text{g/ml}$  from 2010 to 2014 (Fig. 3). Three *S. agalactiae* isolated with reduced susceptibility to penicillin (2  $\mu\text{g/ml}$ ) were identified in 2013 during routine clinical work-up from blood, ascitic fluid, and urine of cancer patients.

#### Discussion

The estimated burden of *S. agalactiae* infections in developing countries remains scarcely investigated. The worldwide incidence of invasive infections in nonpregnant adults is

**Table 2** Number<sup>a</sup> and origin of *S. agalactiae* strains ( $n=263$ ) isolated from cancer patients attended in a Reference Center - INCA, Rio de Janeiro, Brazil during a five-year period (2010–2014)

Year	Urine	Tracheal aspirate	Soft tissues	Lung	Bloodstream		Anal/vaginal exudate	Cerebrospinal fluid (CSF)	Others
					Blood	Catheter tip			
2010 ( $n=80$ )	39	8	10	9	4	2	6	0	2
2011 ( $n=98$ )	57	12	8	9	2	3	4	1	2
2012 ( $n=36$ )	17	4	3	3	3	0	0	0	6
2013 ( $n=23$ )	16	1	3	0	2	0	0	0	1
2014 ( $n=26$ )	17	2	1	1	4	0	0	0	1
Total number (%)	146 (55.5)	27 (10.3)	25 (9.5)	22 (8.4)	20 (7.6)		10 (3.8)	1 (0.4)	12 (4.5)

<sup>a</sup>24.5 % of *S. agalactiae* strains concomitantly found with *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, and/or *Enterococcus faecalis*

