

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

***Streptococcus* do grupo B: comparação entre teste rápido, cultura e PCR no rastreamento pré-natal**

Laura Lima Vieira

Porto Alegre, 2018.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

***Streptococcus* do grupo B: comparação entre teste rápido, cultura e PCR no rastreamento pré-natal**

Laura Lima Vieira

Orientadora: Profa. Dra. Edimárlei Gonsales Valério

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre no Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, 2018.

### CIP - Catalogação na Publicação

Vieira, Laura Lima

Streptococcus do Grupo B: comparação entre teste rápido, cultura e PCR no rastreamento pré-natal. /

Laura Lima Vieira. -- 2018.

58 f.

Orientadora: Edimárlei Gonsales Valério.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Streptococcus do grupo B. 2. cultura. 3. Xpert GBS. 4. reação em cadeia da polimerase. 5. pré-natal. I. Valério, Edimárlei Gonsales, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, José Luiz e Liana, pelos grandes exemplos de pessoas e profissionais que são, e por me proporcionarem todas as condições para alcançar meus objetivos;

Aos meus irmãos Júlia e Pedro, e avó Maria, por estarem sempre junto;

Ao meu marido Maurício pelo apoio e compreensão incondicional em todas as situações ao longo da minha trajetória;

À Professora Dra. Edimárlei pelo suporte e motivação para realização deste trabalho, bem como pela oportunidade e incentivo à vida acadêmica;

À Professora Dra. Janete pelos ensinamentos e persistência para viabilizar todas as etapas do projeto.

## SUMÁRIO

<b>1. LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>6</b>
<b>2. LISTA DE FIGURAS</b>	<b>7</b>
<b>3. RESUMO</b>	<b>7</b>
<b>4. ABSTRACT</b>	<b>10</b>
<b>5. INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>6. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>15</b>
6.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA DA LITERATURA	14
6.2 MAPA CONCEITUAL	15
6.3 <i>STREPTOCOCCUS</i> DO GRUPO B – UMA VISÃO GERAL	16
6.4 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS – PARA ONDE ESTAMOS CAMINHANDO?	22
<b>7. JUSTIFICATIVA</b>	<b>25</b>
<b>8. HIPÓTESES</b>	<b>26</b>
8.1 HIPÓTESE NULA	26
8.2 HIPÓTESE ALTERNATIVA	26
<b>9. OBJETIVOS</b>	<b>27</b>
9.1 OBJETIVO PRINCIPAL	27
9.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	27
<b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>28</b>
<b>11. ARTIGO EM INGLÊS</b>	<b>32</b>
<b>12. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>54</b>
<b>13. PERSPECTIVAS</b>	<b>55</b>
<b>14. ANEXO</b>	<b>56</b>

## 1. LISTA DE ABREVIATURAS

**CDC** – Centro de Controle e Prevenção de Doenças

**HCPA** – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**IC** – Intervalo de Confiança

**IG** – Idade Gestacional

**IV** – Intravenoso

**PCR** – Reação em Cadeia da Polimerase

**SGB** – *Streptococcus* do Grupo B

**GBS** – Group B *Streptococcus*

**CDC** – Center of Diseases Control and Prevention

**PCR** – Polymerase Chain Reaction

**n** – absolute frequency

**n%** – relative frequency

**md** – median

**NICU** – Neonatal Intensive Care Unit

**p** – index of statistical significance

**CI** – Confidence Interval

## 2. LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Mapa Conceitual

15

### 3. RESUMO

**Introdução:** O estreptococo do grupo B (SGB) é considerado um importante agente da sepse neonatal e o uso de antibiótico profilático durante o trabalho de parto pode prevenir o acometimento de recém-nascidos por esta bactéria, sendo recomendado o rastreamento do SGB de rotina no atendimento pré-natal em gestantes com 35 a 37 semanas de idade gestacional (IG). No entanto, muitas pacientes em trabalho de parto não realizaram esse exame previamente e não possuem tempo hábil para a coleta da amostra e obtenção do seu resultado antes do nascimento. **Objetivos:** Comparar diferentes testes de detecção de SGB em gestantes: cultura, Xpert GBS, e reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. **Métodos:** Amostras vaginais e anorretais foram coletadas de 270 gestantes. Cada amostra foi testada para cultura, Xpert GBS e PCR em tempo real para detecção de SGB. **Resultados:** A prevalência de colonização por SGB de acordo com o método de PCR em tempo real foi de 51,1%, de acordo com o teste Xpert GBS foi de 30,7% e de acordo com a cultura foi de 14,3%. Comparando teste rápido Xpert GBS com o PCR em tempo real encontramos uma alta concordância entre os testes negativos (93% de especificidade), porém relativa concordância entre os testes positivos (53% de sensibilidade). Neste estudo não houve associação dos resultados de colonização por SGB com características maternas, como idade, etnia, estado civil, escolaridade e paridade, assim como complicações maternas e do recém-nascido, como corioamnionite e sepse. Os resultados dos testes positivos do Xpert GBS foram associados com o *status* de casadas ou que vivem com parceiros e com a prematuridade como causa de hospitalização do recém-nascido. Encefalopatia hipóxico-isquêmica e necessidade de submissão do recém-nascido a protocolo de hipotermia foram associados aos resultados dos testes de cultura positivos.



**Conclusões:** Encontramos uma alta prevalência de SGB com a técnica de PCR em tempo real e Xpert GBS. O uso do Xpert GBS proporciona resultados diagnósticos em pouco tempo e pode ser útil na avaliação de gestantes que não realizaram o exame no seu pré-natal e estão em risco de trabalho de parto prematuro, com objetivo de administrar antibióticos adequadamente e promover proteção aos neonatos.

**Palavras-chave:** *Streptococcus* do grupo B; cultura; Xpert GBS; reação em cadeia da polimerase; pré-natal.

#### 4. ABSTRACT

**Background:** Group B *Streptococcus* (GBS) is one of the most important causative agents of neonatal sepsis. As administration of prophylactic antibiotics during labor can prevent GBS infection, routine screening for this bacterium in prenatal care before the onset of labor, at 35 to 37 weeks of gestational age, is recommended. However, many women present in labor without having undergone such testing during antenatal care, and the turnaround time of detection methods is insufficient for results to be obtained before delivery. **Aim:** To compare different methods for GBS detection - the Xpert GBS rapid test, vaginal and anorectal discharge cultures, and combined enrichment culture/real-time polymerase chain reaction (PCR) - in a sample of Brazilian pregnant women. **Methods:** Vaginal and anorectal specimens were collected from 270 pregnant women. Each sample was tested by Xpert GBS, PCR, and culture for GBS detection. **Results:** The overall prevalence of maternal GBS colonization was 30.7% according to Xpert GBS, 51.1% according to PCR, and 14.3% according to cultures. Comparing the Xpert GBS to real-time PCR we found high concordance between the negative results (93% specificity), but relative concordance between the positive results (53% sensibility). The positive predictive value was 89% and the negative predictive value was 65%. In this study, PCR results were not associated with maternal characteristics, such as age, race, marital status, educational attainment, and parity, nor with maternal or neonatal newborn complications, such as chorioamnionitis and sepsis. Positive Xpert GBS results were associated with marital status (married or cohabitating) and with prematurity as a cause of neonatal hospitalization. Positive cultures were associated with ischemic-hypoxic encephalopathy requiring therapeutic hypothermia. **Conclusions:** Combined enrichment/PCR and the Xpert GBS rapid test found a high prevalence of GBS

colonization. The Xpert GBS technique gives faster results and could be useful for evaluating mothers who present without antenatal GBS screening results and are at risk of preterm labor, thus allowing institution of prophylactic antibiotic therapy.

Keywords: Group B *Streptococcus*; *Streptococcus agalactiae*; culture; Xpert GBS; real-time polymerase chain reaction; antenatal care.

## 5. INTRODUÇÃO

O *Streptococcus agalactiae*, também conhecido com *Streptococcus* do grupo B (SGB) de Lancefield, é uma bactéria gram-positiva associada com colonização de mucosas do organismo humano, como as do sistema urogenital e do trato gastrointestinal (Buchan *et al.*, 2015; Feyza *et al.*, 2016). Embora raramente acometa indivíduos saudáveis, está relacionado como um dos mais importantes agentes causais da *sepsis* neonatal (Buchan *et al.*, 2015; Castellano-Filho *et al.*, 2010; de-Paris *et al.*, 2011). A utilização de antibioticoterapia profilática no trabalho de parto para as gestantes com exame positivo para colonização por SGB comprovadamente reduz a chance de infecções graves nos recém-nascidos. Em virtude disso, é recomendada a investigação de rotina da presença dessa bactéria antes do início do trabalho de parto em todas gestantes de 35 a 37 semanas de idade gestacional (IG), sendo indicada profilaxia antibiótica intraparto para aquelas colonizadas (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Em nosso meio, contudo, nem todas as gestantes realizam acompanhamento pré-natal adequado. Assim, quando iniciam o trabalho de parto ou buscam atendimento em emergências obstétricas/maternidades por outros motivos, não consta na carteira do pré-natal a informação sobre a testagem de colonização por SGB. Tendo em vista a gravidade da afecção da bactéria em neonatos, torna-se essencial a investigação dessa bactéria antes do trabalho de parto, para que a antibioticoterapia profilática intraparto seja realizada. No entanto, os exames disponíveis nos laboratórios de análises clínicas, como a cultura bacteriana e boa parte das técnicas de PCR que são utilizadas, são demoradas, podendo levar até 72 horas para obtenção do resultado (Alfa *et al.*, 2010; de-Paris *et al.*, 2011). Essa espera inviabiliza a utilização desses exames para definir a conduta das gestantes

em trabalho de parto que não coletaram o exame antes. Associado a isso, a estratégia do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) de investigar a colonização por SGB entre 35 e 37 semanas de IG não inclui a investigação de gestantes que entrem em trabalho de parto prematuro inferior a 35 semanas e, além disso, a colonização é intermitente, podendo ocorrer falso-negativos no exame (Verani, McGee e Schrag, 2010). Dessa forma, opta-se pela administração de antibiótico profilático em gestantes em trabalho de parto abaixo de 37 semanas de IG a fim de evitar a contaminação do recém-nascido, mesmo sem saber da real existência da colonização por SGB, o que acarreta no uso indiscriminado destes fármacos (Alfa *et al.*, 2010; Gavino e Wang, 2007). Também se indica profilaxia em gestantes com indicações médicas estabelecidas: febre intraparto maior ou igual a 38° Celsius (sem outra causa conhecida), urocultura positiva para SGB na gestação atual, ruptura prematura de membranas com duração maior que 18 horas, acometimento de neonato por sepse neonatal por SGB em gestação prévia, ruptura prematura de membranas em pré-termo (Verani, McGee e Schrag, 2010). Opta-se por não indicar profilaxia de rotina para pacientes a termo sem essas características, considerando o risco de aumento da resistência microbiana a antibióticos, o que, por outro lado, pode colocar em risco os RN de mães colonizadas, porém sem testagem prévia.

Outro fator a ser considerado diz respeito à profilaxia antibiótica intraparto, em que se preconiza uso de penicilina G como tratamento padrão. No entanto, algumas penicilinas encontram-se em falta no mercado brasileiro, sendo priorizado seu uso para pacientes de maior risco como neonatos e gestantes com sífilis (Estrat *et al.*, 2015). Em nosso meio, no momento atual, faz-se uso de ampicilina para profilaxia intraparto de SGB, ou mesmo de cefazolina na ausência desta última (medicação

também utilizada para profilaxia cirúrgica em cesarianas), como tratamentos alternativos à penicilina. Deve-se considerar possível o aumento da resistência bacteriana a estas medicações nos próximos anos, o que reitera a necessidade de administração cautelosa de antibióticos.

Analisando as informações supracitadas, seria de relevante importância a possibilidade de ser realizado um teste rápido na internação obstétrica para avaliar a presença do SGB na gestante que não possui o exame prévio (Alfa *et al.*, 2010; Buchan *et al.*, 2015; Gavino e Wang, 2007), objetivando evitar o uso desnecessário de antibiótico e proteger um maior número de neonatos.

## 6. REVISÃO DA LITERATURA

### 6.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA DA LITERATURA

Pubmed e EMBASE foram utilizados na busca de artigos para revisão de literatura, utilizando as seguintes palavras-chave: (1) Xpert GBS, (2) Group B *Streptococcus* detection, (3) Group B *Streptococcus* AND culture, (4) Group B *Streptococcus* AND PCR. Os artigos foram selecionados a partir do resumo em relação ao tema, bem como artigos adicionais foram incluídos a partir da bibliografia dos mesmos.

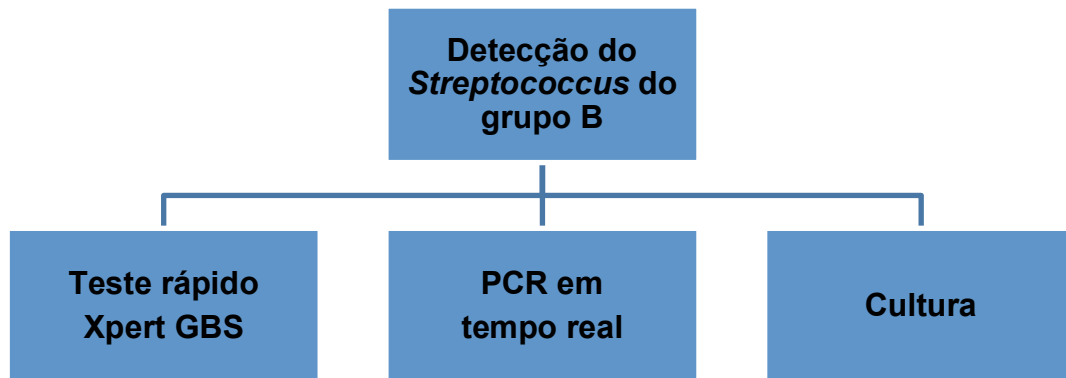
**Tabela 1.** Resultado de busca da literatura

PALAVRAS-CHAVE	PUBMED	EMBASE
Xpert GBS	14	41
Group B <i>Streptococcus</i> detection	646	93
Group B <i>Streptococcus</i> AND culture	1603	986
Group B <i>Streptococcus</i> AND PCR	555	196

### 6.2 MAPA CONCEITUAL

O estudo tem como objetivo avaliar a concordância da testagem rápida de SGB com o teste padrão (cultura) e com o PCR em tempo real realizado no HCPA (Hospital de Clínicas de Porto Alegre) em gestantes. A partir desta comparação, avaliar a aplicabilidade do teste rápido em gestantes em trabalho de parto que não possuem o resultado do exame e que não possuem tempo hábil para obtenção do

resultado com a realização de testes como a cultura e o PCR em tempo real realizado na instituição.



**Figura1.** Mapa Conceitual

### 6.3 STREPTOCOCCUS DO GRUPO B – UMA VISÃO GERAL

Na década de 70, o SGB surge como uma importante causa de sepse neonatal precoce (infecção que ocorre durante a primeira semana após o nascimento), aumentando a morbidade e mortalidade neonatal (Franciosi, Knostman e Zimmerman, 1973; McCracken, 1973). As manifestações clínicas desta infecção normalmente ocorrem nas primeiras 24 a 48 horas de vida, incluindo apnéia, esforço respiratório aumentado, ou outros sinais de sepse. A sepse neonatal e a pneumonia são os eventos mais frequentes, sendo a meningite, celulite e osteomielite menos frequentes, porém igualmente relevantes (Castellano-Filho *et al.*, 2010; Feyza *et al.*, 2016; Verani, McGee e Schrag, 2010). Quanto ao acometimento materno, apesar da maioria dos casos serem assintomáticos, o SGB pode causar infecção do trato urinário, aborto, trabalho de parto prematuro, corioamnionite e endometrite puerperal (Melo *et al.*, 2018).



A prevalência do SGB pode variar de acordo com a população em estudo e com o método utilizado para detecção da bactéria. Determinantes climáticos, biológicos, socioculturais, geográficos e metodológicos podem justificar esta variabilidade (Sharmila *et al.*, 2011; Wollheim *et al.*, 2017, Melo *et al.*, 2018). Estima-se que no mundo, em torno de 6,5 a 36% das gestantes sejam colonizadas pelo SGB (Barcaite *et al.*, 2008; Khan, Faiz e Ashshi, 2015; Verani, McGee e Schrag, 2010). No Brasil, a prevalência não parece ser diferente da mundial, podendo variar de 9 a 36% dependendo da região (Botelho *et al.*, 2018; Castellano-Filho *et al.*, 2010; Feuerschuetz *et al.*, 2018; Melo *et al.*, 2018; Wollheim *et al.*, 2017).

Como importantes fatores de risco para esta infecção podemos destacar a colonização materna por esta bactéria, sendo que sua transmissão ocorre via vertical durante o parto, por meio do contato e da aspiração de secreção do canal do parto (Buchan *et al.*, 2015; Castellano-Filho *et al.*, 2010; El Helali *et al.*, 2009). Outros fatores de risco associados com o acometimento neonatal incluem prematuridade (IG abaixo de 37 semanas de gestação), infecção de membranas ovulares, duração da ruptura de membranas ovulares, baixa idade materna, etnia negra (Verani, McGee e Schrag, 2010). Infecção do trato urinário por SGB sugerindo forte colonização e história de infecção de recém-nascido prévio pela bactéria conferem um maior risco de infecção para o neonato (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Estima-se que até 75% dos recém-nascidos de mães colonizadas serão contaminados por SGB, dentre os quais 1-2% apresentarão sintomas nos primeiros dias de vida quando não for realizada nenhuma prevenção para impedir a transmissão vertical (Castellano-Filho *et al.*, 2010; Feyza *et al.*, 2016; Munari *et al.*, 2011). A maioria das mães é assintomática, sendo o diagnóstico da colonização pela

anamnese e exame físico impossível, fazendo-se necessários exames complementares específicos (Buchan *et al.*, 2015).

A colonização por SGB pode ser transitória, intermitente ou persistente (Hansen *et al.*, 2004; Hoogkamp-Korstanje, Gerards e Cats, 1982). O principal reservatório da bactéria e provavelmente a fonte de contaminação vaginal é o trato gastrointestinal. Considerando que a infecção adquirida pelo recém-nascido ocorre por meio do contato direto com as secreções do canal do parto e que o *status* de colonização materna pode mudar ao longo da gestação, o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) recomenda a investigação da colonização de SGB nas gestantes no acompanhamento pré-natal com a pesquisa da bactéria por cultura de material coletado com *swab* retal e vaginal no período de 35 a 37 semanas de IG (Verani, McGee e Schrag, 2010). Em diretriz Européia (Di Renzo *et al.*, 2015) também é indicado rastreamento universal da bactéria, estratégia seguida por vários países deste continente.

O método padrão, a cultura, preconizada pelo CDC, inclui a coleta de *swab* vaginal e retal (através do esfíncter anal) utilizando o mesmo *swab* ou 2 *swabs* diferentes, e armazenamento em meio de transporte apropriado (Stuart ou Amies), preferencialmente a 4°C e processada até 24 horas após a coleta (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Considerando que o *status* de colonização da bactéria é dinâmico e variável, quanto mais perto do termo a amostra for coletada, maior sua aplicabilidade, visto que a sensibilidade e especificidade aumentam (Di Renzo *et al.*, 2015). O valor preditivo negativo da cultura por SGB realizada em até 5 semanas é de 95 a 98%, porém este valor reduz consideravelmente se este período for maior (Yancey *et al.*,

1996), sendo indicada a coleta da amostra cujo resultado é negativo nestes casos (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Outros métodos diagnósticos têm sido preconizados, principalmente aqueles baseados em PCR (um tipo de teste de amplificação de ácidos nucleicos – NAT). Estas técnicas têm demonstrado um importante papel nos últimos anos, tendo em vista as desvantagens da cultura, incluindo um longo tempo para obtenção do resultado, o que a torna inaplicável a uma porcentagem relevante de pacientes com *status* desconhecido da bactéria no momento do parto, bem como baixa sensibilidade do método (Carrillo-Ávila *et al.*, 2018; Di Renzo *et al.*, 2015), o que pode colocar em risco neonatos cujas mães possuem resultados falso-negativos e não recebem profilaxia antibiótica durante o trabalho de parto. Falsos-negativos com a realização da cultura podem ser decorrentes de crescimento excessivo de outras bactérias que podem inibir o crescimento do SGB ou mesmo da incapacidade da cultura em detectar colônias com baixa carga da bactéria (Rallu *et al.*, 2006; Wollheim *et al.*, 2017). Por outro lado, os métodos baseados em PCR detectam sequências gênicas e têm demonstrado boa sensibilidade e especificidade, sendo que têm potencial de oferecer opção de execução rápida o suficiente para possibilitar o uso durante o trabalho de parto (Björklund *et al.*, 2016; El Helali *et al.*, 2009).

A identificação da presença de colonização por SGB indica tratamento profilático intraparto, a fim de reduzir as chances de transmissão vertical e a contaminação do recém-nascido (Verani, McGee e Schrag, 2010, Di Renzo *et al.*, 2015). A associação da identificação da bactéria com o tratamento antibiótico intraparto reduziu em torno de 60-80% a incidência de transmissão vertical (Meehan *et al.*, 2015; Verani, McGee e Schrag, 2010). A administração da profilaxia antibiótica

com beta-lactâmicos com uma antecedência de ao menos 4 horas do parto tem demonstrado maior efetividade na prevenção da transmissão vertical por SGB, embora uma antecedência de 2 horas possa ser aceitável (Di Renzo *et al.*, 2015).

Em recém-nascidos com sinais de sepse neonatal precoce, a detecção de SGB é realizada através da realização de hemocultura e cultura de líquido cefalorraquidiano, considerando que em até 15-33% dos casos de meningite as hemoculturas podem ser negativas. Sabendo-se que há falsos-negativos, quaisquer sinais de sepse podem indicar infecção por SGB, independente do *status* de colonização materna (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Em nosso meio e na maioria das maternidades, a utilização de antibioticoterapia profilática intraparto para as gestantes que não possuem rastreamento para bactéria ou que possuem rastreamento negativo realizado há mais de 5 semanas vem sendo indicada para os grupos de risco citados previamente: trabalho de parto pré-termo (IG menor ou igual a 37 semanas), ruptura prematura de membranas a mais de 18 horas, história de urocultura positiva para SGB durante a gestação atual, acometimento do neonato por sepse neonatal por SGB em gestação prévia, febre maior ou igual a 38° Celsius (sem causa conhecida) e ruptura prematura de membranas em pré-termo (Clifford, Garland e Grimwood, 2012; Verani, McGee e Schrag, 2010). A administração não está indicada para cesarianas eletivas realizadas antes do trabalho de parto e com membranas amnióticas íntegras independentemente do *status* de colonização da bactéria ou da idade gestacional. Também não está indicada para colonização materna por SGB ou urocultura prévia positiva para SGB em gestação anterior (Di Renzo *et al.*, 2015; Verani, McGee e Schrag, 2010).

As penicilinas constituem o tratamento de primeira linha para profilaxia intraparto e para o tratamento de infecções por SGB para população pediátrica e adulta, considerando que o crescimento bacteriano do SGB é uniformemente suscetível a todos os beta-lactâmicos (Di Renzo *et al.*, 2015). A profilaxia intraparto padrão para tratamento de SGB é realizada com penicilina G 5,0 milhões de UI IV (dose de ataque), seguida de 2,5-3,0 milhões de UI a cada 4 horas até o nascimento do concepto – tratamento padrão –, ou com ampicilina 2g IV (dose de ataque), seguida de 1g IV a cada 4 horas, como alternativa terapêutica. Para pacientes com história de alergia a penicilina, mas sem relato de anafilaxia, angioedema, dificuldade respiratória ou urticária, preconiza-se o uso de cefazolina, 2g IV (dose de ataque), e após 1g a cada 8 horas durante o trabalho de parto (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Para as pacientes alérgicas aos beta-lactâmicos e com risco elevado de anafilaxia, sugere-se testagem antibiótica pré-natal de sensibilidade à clindamicina, sendo indicado uso desta medicação no trabalho de parto na dose de 900mg IV a cada 8 horas, caso não haja resistência bacteriana. Há uma crescente preocupação quanto ao crescimento da resistência bacteriana de macrolídeos e lincosamidas nas últimas décadas, havendo relatos de 20 a 30% de resistência ou até mais em alguns estudos (Back, O'Grady e Back, 2012; Di Renzo *et al.*, 2015). Para as pacientes resistentes ou com testagem antibiótica desconhecida para clindamicina, indica-se uso de vancomicina 1g IV a cada 12 horas (Verani, McGee e Schrag, 2010).

#### 6.4 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS – PARA ONDE ESTAMOS CAMINHANDO?

Para o rastreamento pré-natal do SGB, é recomendado o método de cultura da bactéria como teste padrão (Verani, McGee e Schrag, 2010). O *swab* coletado deve ser inoculado em meio de cultura de Todd Hewitt e suplementado com gentamicina (8µg/mL) e ácido nalidíxico (15µg/mL) (caldo TransVag) ou com colistina (10µg/mL) e ácido nalidíxico (15µg/mL) (caldo Lim). A amostra deve ser incubada, à temperatura de 35 a 37° Celsius, durante 18 a 24 horas, em CO<sub>2</sub> 5%, e então realizar uma subcultura em placas de ágar de sangue e incubar a 36° Celsius por mais 24h, em CO<sub>2</sub> 5%. Após incubação, as placas serão inspecionadas para a presença de colônias beta-hemolíticas. Caso não haja crescimento de placas beta-hemolíticas após 24h, as placas serão reincubadas por mais 24h e novamente inspecionadas. As colônias beta-hemolíticas cuja morfologia seja consistente com SGB serão submetidas a subcultura e ao teste de CAMP. As colônias positivas para o teste de CAMP serão presumivelmente positivas para SGB (Verani, McGee e Schrag, 2010).

Além de demorar em torno de 48 a 72 horas para identificação completa do SGB, há falsos negativos com a utilização deste método, devendo-se considerar infecção por SGB em vigência de sinais de sepse no neonato, independente do *status* materno de colonização pela bactéria (de-Paris *et al.*, 2011; Verani, McGee e Schrag, 2010). A sensibilidade do método varia de 42% (IC 95% 36-49%) a 87% (IC 95% 83-92%) e a especificidade de 96% (IC 95% 95-98%) a 100% (IC 95% 99-100%) (Rallu *et al.*, 2006; Yancey *et al.*, 1996).

Apesar do CDC indicar a cultura como o método padrão para identificação da bactéria, outros métodos de identificação vêm sendo estudados, incluindo técnicas

de PCR. Em estudo realizado no HCPA, a sensibilidade do teste de PCR convencional com enriquecimento prévio da amostra para detecção do GBS, quando comparado com a cultura – o teste padrão –, foi de 100%; já a especificidade foi de 87%. O valor preditivo positivo foi 59% e o valor preditivo negativo foi 100% (de-Paris *et al.*, 2011). Em outro estudo, comparado a cultura, o PCR convencional com enriquecimento prévio da amostra apresentou 100% de sensibilidade, 96% de especificidade e valores preditivos positivo e negativo de 87 e 100%, respectivamente (Wollheim *et al.*, 2017).

Desde 2015 foi implementada a técnica de PCR em tempo real com enriquecimento prévio da amostra na instituição. Métodos de PCR em tempo real vêm sendo estudados, e a maioria dos estudos disponíveis são estudos avaliando testes de rápida detecção para uso intraparto, como o Xpert GBS (Cepheid®). No HCPA é realizado o enriquecimento prévio da amostra, seguido da extração do DNA e análise de PCR em tempo real das amostras coletadas, demorando em torno de 48 a 72 horas para obtenção do resultado do exame.

Para realização da testagem rápida da bactéria, dispomos do teste Xpert GBS (Cepheid®), comercializado no Brasil, cuja análise também é realizada a partir do PCR em tempo real. A detecção de SGB é realizada diretamente a partir de *swab* anal e vaginal. Para processamento do material, é necessário um dispositivo específico, em que as funções de preparação, amplificação e detecção são integradas e automatizadas. Assim torna-se possível o seu uso inclusive por técnicos menos experientes, apenas com o treinamento específico do uso de equipamento. As amostras são individualizadas, o que minimiza a contaminação cruzada, com o tempo para obtenção do resultado podendo durar até 50 minutos (Buchan *et al.*, 2015). Em estudos avaliando a acurácia do método estima-se que

sua sensibilidade seja de 85,7% (IC 95% 70,6-93,7%) a 98,5% (IC 95% 94,8-99,6%) e especificidade de 64,5% (IC 95% 45,4-80,2%) a 99,6% (IC 95% 98,8-99,9%) (Edwards *et al.*, 2008; El Helali *et al.*, 2009; Gavino e Wang, 2007, Mueller *et al.*, 2014).



## 7. JUSTIFICATIVA

Considerando que uma porcentagem significativa das pacientes que internam em trabalho de parto no centro obstétrico do HCPA não realizou o rastreamento para SGB durante o seu pré-natal, e que não há a disponibilidade de exame para detecção precoce da bactéria, vem ocorrendo uso indiscriminado de antibióticos, conforme as indicações médicas estabelecidas; há também pacientes colonizadas e sem fatores de risco que não recebem a profilaxia. Dessa forma, a utilização de teste rápido para detecção do SGB (Björklund *et al.*, 2016; Buchan *et al.*, 2015; El Helali *et al.*, 2009; Gavino e Wang, 2007) abriria a possibilidade de realizar o rastreamento durante a internação obstétrica, evitando assim a administração inapropriada de antibioticoterapia em pacientes cujo exame é desconhecido e proporcionando proteção adequada a todos neonatos que necessitem, sem o uso indiscriminado da medicação.

Também devemos considerar a falta da penicilina (tratamento padrão para profilaxia antibiótica intraparto) no mercado brasileiro, fazendo-se uso de ampicilina ou cefazolina para profilaxia intraparto de SGB como tratamentos alternativos à penicilina no nosso meio, e contribuindo para possível aumento da resistência bacteriana a estas medicações nos próximos anos.

O presente estudo pretende comparar o teste rápido com o teste padrão – a cultura de secreção vaginal e retal –, e também com o método de PCR em tempo real (método utilizado para rastreio nesta instituição) e, dessa forma, analisar os benefícios do uso do teste rápido nas pacientes em trabalho de parto com *status* de colonização por SGB desconhecido, incluindo cobertura antibiótica adequada nas pacientes em trabalho de parto com exame positivo.

## **8. HIPÓTESES**

### **8.1 HIPÓTESE NULA**

O teste rápido para rastreamento da colonização de SGB no pré-natal não é inferior aos métodos de cultura – teste padrão -, ou de PCR em tempo real com enriquecimento prévio da amostra.

### **8.2 HIPÓTESE ALTERNATIVA**

O teste rápido para rastreamento da colonização de SGB no pré-natal é inferior aos métodos de cultura – teste padrão -, ou de PCR em tempo real com enriquecimento prévio da amostra.

## **9. OBJETIVOS**

### **9.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

Comparar a concordância da testagem rápida de SGB com o teste padrão (cultura) e com o PCR em tempo real em gestantes atendidas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

### **9.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS**

Avaliar a prevalência de colonização de SGB dentre as gestantes atendidas.

Avaliar a associação dos resultados de testes positivos com características e desfechos maternos e neonatais.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALFA, M. J.; SEPEHRI, S.; DE GAGNE, P.; HELAWA, M.; SANDHU, G.; HARDING, G. K. M. Real-time PCR assay provides reliable assessment of intrapartum carriage of group B Streptococcus. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 9, p. 3095–3099, 2010.
2. BACK, E. E.; O'GRADY, E. J.; BACK, J. D. High rates of perinatal group B Streptococcus clindamycin and erythromycin resistance in an Upstate New York Hospital. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 2012.
3. BARCAITE, E.; BARTUSEVICIUS, A.; TAMELIENE, R.; KLIUCINSKAS, M.; MALECKIENE, L.; NADISAUSKIENE, R. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries. **Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica**, v. 87, n. 3, p. 260–271, 2008.
4. BJÖRKLUND, V.; NIEMINEN, T.; ULANDER, V. M.; AHOLA, T.; SAXÉN, H. Replacing risk-based early-onset-disease prevention with intrapartum group B streptococcus PCR testing. **The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians**, p. 1–22, 2016.
5. BOTELHO, A. C. N.; OLIVEIRA, J. G.; DAMASCO, A. P.; SANTOS, K. T. B.; FERREIRA, A. F. M.; ROCHA, G. T.; MARINHO, P.S.; BORNIA, R. B. G.; PINTO, T. C. A.; AMERICO, M. A.; FRACALANZZA, S. E. L.; TEIXEIRA, L. M. Streptococcus agalactiae carriage among pregnant women living in Rio de Janeiro, Brazil, over a period of eight years. **PloS one**, 2018.
6. BUCHAN, B. W.; FARON, M. L.; FULLER, D.; DAVIS, T. E.; MAYNE, D.; LEDEBOER, N. A. Multicenter clinical evaluation of the xpert GBS LB assay for detection of group b streptococcus in prenatal screening specimens. **Journal of clinical microbiology**, v. 53, n. 2, p. 443–448, 2015.
7. CARRILLO-ÁVILA, J. A.; GUTIÉRREZ-FERNÁNDEZ, J.; GONZÁLEZ-ESPÍN, A. I.; GARCÍA-TRIVIÑO, E.; GIMÉNEZ-LIROLA, L. G. Comparison of qPCR and culture methods for group B Streptococcus colonization detection in pregnant women: Evaluation of a new qPCR assay. **BMC infectious diseases**, 2018.
8. CASTELLANO-FILHO, D. S.; SILVA, V. L. DA; NASCIMENTO, T. C.; VIEIRA, M. DE T.; DINIZ, C. G. Detection of group B Streptococcus in Brazilian pregnant women and antimicrobial susceptibility patterns. **Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 41, n. 4, p. 1047–1055, 2010.
9. CLIFFORD, V.; GARLAND, S. M.; GRIMWOOD, K. Prevention of neonatal group B streptococcus disease in the 21st century. **Journal of Paediatrics and Child Health**, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1754.2011.02203.x>>
10. DI RENZO, G. C.; MELIN, P.; BERARDI, A.; BLENNOW, M.; CARBONELL-

- ESTRANY, X.; DONZELLI, G. P.; HAKANSSON, S.; HOD, M.; HUGHES, R.; KURTZER, M.; POYART, C.; SHINWELL, E.; STRAY-PEDERSEN, B.; WIELGOS, M.; EL HELALI, N. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: A European consensus conference. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, 2015.
11. EDWARDS, R. K.; NOVAK-WEEKLEY, S. M.; KOTY, P. P.; DAVIS, T.; LEEDS, L. J.; JORDAN, J. A. Rapid group B streptococci screening using a real-time polymerase chain reaction assay. **Obstetrics and gynecology**, v. 111, n. 6, p. 1335–1341, jun. 2008.
  12. EL HELALI, N.; NGUYEN, J.-C.; LY, A.; GIOVANGRANDI, Y.; TRINQUART, L. Diagnostic accuracy of a rapid real-time polymerase chain reaction assay for universal intrapartum group B streptococcus screening. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 49, n. 3, p. 417–423, 2009.
  13. ESTRAT, I.; MINIST, D. O.; TRATAMENTOS, D. E. P.; ISTS, D. A. S.; TRIPARTITE, I.; TRANSMISS, S. NOTA INFORMATIVA CONJUNTA N° 109 / 2015 / GAB / SVS / MS , GAB / SCTIE / MS. 2015.
  14. FEUERSCHUETTE, OHM; SILVEIRA, SK; CANCELIER, ACL; DA SILVA, RM; TREVISOL, DJ; PEREIRA, JR. Diagnostic yield of real-time polymerase chain reaction in the diagnosis of intrapartum maternal rectovaginal colonization by group B Streptococcus: a systematic review with meta-analysis. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, 2018.
  15. ALP, FEYZA; FINDIK, DUYGU; DAGI, HATICE TURK; ARSLAN, UGUR; PEKIN, AYBIKE TAZEGUL; YILMAZ, SETENAY ARZU. Screening and genotyping of group B streptococcus in pregnant and non-pregnant women in Turkey. **Journal of infection in developing countries**, p. 222–226, 2016.
  16. FRANCIOSI, R. A.; KNOTSMAN, J. D.; ZIMMERMAN, R. A. Group B streptococcal neonatal and infant infections. **The Journal of pediatrics**, 1973.
  17. GAVINO, M.; WANG, E. A comparison of a new rapid real-time polymerase chain reaction system to traditional culture in determining group B streptococcus colonization. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 197, n. 4, 2007.
  18. HANSEN, S. M.; ULDBJERG, N.; KILIAN, M.; SØRENSEN, U. B. S. Dynamics of Streptococcus agalactiae Colonization in Women during and after Pregnancy and in Their Infants. **Journal of clinical microbiology**, 2004.
  19. HOOGKAMP-KORSTANJE, J. A.; GERARDS, L. J.; CATS, B. P. Maternal carriage and neonatal acquisition of group b streptococci. **The Journal of infectious diseases**, 1982.
  20. KHAN, M. A.; FAIZ, A.; ASHSHI, A. M. Maternal colonization of group B streptococcus: prevalence, associated factors and antimicrobial resistance. **Annals of Saudi medicine**, v. 35, n. 6, p. 423–427, nov. 2015.

21. MCCRACKEN, G. H. Group B streptococci: The new challenge in neonatal infections. **The Journal of pediatrics**, v. 82, p. 703–706, 1973.
22. MEEHAN, M.; CAFFERKEY, M.; CORCORAN, S.; FORAN, A.; HAPNES, N.; LEBLANC, D.; MCGUINNESS, C.; NUSGEN, U.; O’SULLIVAN, N.; CUNNEY, R.; DREW, R. Real-time polymerase chain reaction and culture in the diagnosis of invasive group B streptococcal disease in infants: a retrospective study. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, 2015.
23. MELO, S. C. C. S. DE; COSTA, A. B.; SILVA, F. T. R. DA; SILVA, N. M. M. G.; TASHIMA, C. M.; CARDOSO, R. F.; PÁDUA<sup>2</sup>, R. A. F. DE; PREVIDELLI<sup>3</sup>, I.; CARVALHO<sup>4</sup>, M. D. DE B.; PELLOSO<sup>4</sup>, S. M. Prevalence of Streptococcus agalactiae colonization in pregnant women from the 18th Health Region of Paraná State. **Journal of the Sao Paulo Institute of Tropical Medicine**, v. 60, 2018.
24. MUELLER, M.; HENLE, A.; DROZ, S.; KIND, A. B.; ROHNER, S.; BAUMANN, M.; SURBEK, D. Intrapartum detection of Group B streptococci colonization by rapid PCR-test on labor ward. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. v.176, p.137–141, 2014.
25. MUNARI, F. M.; DE-PARIS, F.; SALTON, G. D.; LORA, P. S.; GIOVANELLA, P.; MACHADO, A. B. M. P.; LAYBAUER, L. S.; OLIVEIRA, K. R. P.; FERRI, C. SILVEIRA, J. L. S.; LAURINO, C. C. F. C.; XAVIER, R. M.; BARTH, A. L.; ECHEVERRIGARAY, S.; LAURINO, J. P. A combined enrichment/polymerase chain reaction based method for the routine screening of Streptococcus agalactiae in pregnant women. Status: accepted on september/2011. **Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. XX, p. XX, 2011.
26. DE-PARIS, F.; MACHADO, A. B. M. P.; GHENO, T. C.; ASCOLI, B. M.; OLIVEIRA, K. R. P. D.; BARTH, A. L. Group B Streptococcus detection: comparison of PCR assay and culture as a screening method for pregnant women. **The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 323–327, 2011.
27. RALLU, F.; BARRIGA, P.; SCRIVO, C.; MARTEL-LAFERRIÈRE, V.; LAFERRIÈRE, C. Sensitivities of antigen detection and PCR assays greatly increased compared to that of the standard culture method for screening for group B streptococcus carriage in pregnant women. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 3, p. 725–728, mar. 2006.
28. SHARMILA, V.; JOSEPH, N. M.; ARUN BABU, T.; CHATURVEDULA, L.; SISTLA, S. Genital tract group B streptococcal colonization in pregnant women: a South Indian perspective. **Journal of infection in developing countries**, v. 5, n. 8, p. 592–595, 2011.
29. VERANI, J. R.; MCGEE, L.; SCHRAG, S. J. Prevention of perinatal group B streptococcal disease - revised guidelines from CDC, 2010. **MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report**.

**Recommendations and reports / Centers for Disease Control**, v. 59, n. RR-10, p. 1–36, 2010.

30. WOLLHEIM, C.; SPERHACKE, R. D.; FONTANA, S. K. R.; VANNI, A. C.; KATO, S. K.; ARAÚJO, P. R. DE; BARTH, A. L.; MADI, J. M. Group B Streptococcus detection in pregnant women via culture and PCR methods. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 2, p. 179–183, 2017.
31. YANCEY, M. K.; SCHUCHAT, A.; BROWN, L. K.; VENTURA, V. L.; MARKENSON, G. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting intrapartum group B streptococcal colonization at delievery. **Journal of obstetrics and gynaecology**, v. 88, 1996.

## 11. ARTIGO EM INGLÊS

### **Group B *Streptococcus* detection in pregnant women: comparison of real-time PCR assay, culture, and the Xpert GBS rapid test**

#### **Authors:**

Laura Lima Vieira<sup>1</sup>

Edimárlei Gonsales Valério<sup>1,2,3</sup>

Janete Vettorazzi<sup>1,2,3</sup>

Amanda Vilaverde Perez<sup>2</sup>

Monique Moura Machado<sup>2</sup>

Charles Francisco Ferreira<sup>1</sup>

Michele Luz Kayser<sup>2</sup>

Daniela Vanessa Vettori<sup>1,3</sup>

Ana Paula Alegretti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Health Sciences: Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, UFRGS School of Medicine, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>4</sup>Department of Molecular Biology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Correspondence to:

Professor Edimárlei Gonsales Valério

Serviço de Obstetrícia e Ginecologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350/1124, Santa Cecília

Porto Alegre, RS 90035-903

Brazil

E-mail: [evalerio@hcpa.edu.br](mailto:evalerio@hcpa.edu.br)



## **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Group B *Streptococcus* (GBS) is one of the most important causative agents of neonatal sepsis. As administration of prophylactic antibiotics during labor can prevent GBS infection, routine screening for this bacterium in prenatal care before the onset of labor, at 35 to 37 weeks of gestational age, is recommended. However, many women present in labor without having undergone such testing during antenatal care, and the turnaround time of detection methods is insufficient for results to be obtained before delivery. **OBJECTIVES:** To compare different methods for GBS detection—the Xpert GBS rapid test, vaginal and anorectal discharge cultures, and combined enrichment culture/real-time polymerase chain reaction (PCR)—in a sample of Brazilian pregnant women. **MATERIALS AND METHODS:** Vaginal and anorectal specimens were collected from 270 pregnant women. Each sample was tested by Xpert GBS, PCR, and culture for GBS detection. **RESULTS:** The overall prevalence of maternal GBS colonization was 30.7% according to Xpert GBS, 51.1% according to PCR, and 14.3% according to cultures. Comparing the Xpert GBS to real-time PCR we found high concordance between the negative results (93% specificity), but relative concordance between the positive results (53% sensibility). The positive predictive value was 89% and the negative predictive value was 65%. In this study, PCR results were not associated with maternal characteristics, such as age, race, marital status, educational attainment, and parity, nor with maternal or neonatal newborn complications, such as chorioamnionitis and sepsis. Positive Xpert GBS results were associated with marital status (married or cohabitating) and with prematurity as a cause of neonatal hospitalization. Positive cultures were associated with ischemic–hypoxic encephalopathy requiring therapeutic hypothermia. **CONCLUSIONS:** Combined

enrichment/PCR and the Xpert GBS rapid test found a high prevalence of GBS colonization. The Xpert GBS technique gives faster results and could be useful for evaluating mothers who present without antenatal GBS screening results and are at risk of preterm labor, thus allowing institution of prophylactic antibiotic therapy.

Keywords: Group B *Streptococcus*; *Streptococcus agalactiae*; culture; Xpert GBS; real-time polymerase chain reaction; antenatal care.

## INTRODUCTION

Group B *Streptococcus* (GBS) is a gram-positive bacterium associated with the colonization of human body's mucous membranes. GBS is one of the most important causative agents of neonatal sepsis, which can be prevented by administration of prophylactic antibiotics during labor. Women can be transiently, intermittently, or persistently colonized by GBS in their vaginal or anorectal mucosae<sup>1</sup>. A prevention strategy based on bacterial screening and intrapartum antimicrobial prophylaxis in those pregnant women identified as carriers has led to a reduction in the incidence of neonatal diseases attributable to GBS<sup>2</sup>. The U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)<sup>3</sup> recommend routine screening for GBS as an integral part of antenatal care. Ideally, this should be done at a gestational age of 35 to 37 weeks, or earlier in women at risk of premature labor.

Routine GBS screening is done by polymerase chain reaction (PCR)-based tests and cultures. A 2011 study that evaluated a combination of enrichment culture and PCR versus conventional cultures at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), a tertiary care hospital in Southern Brazil,<sup>4</sup> found that enrichment culture/PCR had 87% specificity, with a positive predictive value of 59% and a negative predictive value of 100%. Since 2015, enrichment culture with real-time

PCR has become the standard method for GBS detection at HCPA<sup>4-6</sup>. However, these methods usually take around 48-72 hours to complete, which has prompted the search for a more rapid test, especially to support urgent decision-making regarding administration of antibiotic prophylaxis.

The Xpert® GBS (Cepheid) is a rapid test based on PCR technology whereby rectal and vaginal swabs are collected and a result is obtained in approximately 50 minutes. This method is commercially available in Brazil and has demonstrated high sensitivity for GBS detection in other studies<sup>7,8</sup>.

Considering that many women in Brazil present in labor without having undergone GBS screening during antenatal care, and that many women at risk of preterm labor are admitted to maternity units before GBS screening can be performed on an outpatient basis, the turnaround time of conventional GBS detection methods is too slow for results to be obtained before delivery. Within this context, the present study was designed to evaluate the diagnostic accuracy of the Xpert GBS rapid test and compare it with that of combined enrichment/PCR (currently used for GBS screening at HCPA) and with the conventional vaginal/rectal discharge culture method.

## **METHODS**

This prospective study was carried out between March and September 2017. Pregnant women who presented for medical appointments at the outpatient, antenatal, and labor and delivery units of the HCPA Department of Obstetrics and Gynecology were recruited. The study was approved by the institutional Research Ethics Committee (CAAE: 59688316.0.0000.5327), and all patients provided written informed consent prior to enrollment. The inclusion criterion was gestational age  $\geq 24$

weeks, while the exclusion criterion was any use of antibiotics in the 30 days preceding enrollment.

Among 300 enrolled women, 30 were excluded: 5 refused to participate, 10 had already undergone GBS screening and received their results at the time of study inclusion, and 15 had used antibiotics in the last 30 days (Figure 1). Thus, the final sample comprised 270 women.

Three vaginal and rectal swabs (one sample for each screening method - Xpert GBS, real-time PCR, and culture) - were collected from each patient and immediately stored in Stuart transport medium, according to CDC recommendations. The swabs collected for PCR were sent to the HCPA microbiology and molecular biology laboratories; the culture swabs were sent to an outside laboratory (Endocrimeta<sup>9</sup>); and the Xpert GBS samples were analyzed on specific equipment provided by Cepheid. All samples were sent for evaluation within 24 hours of collection.

#### Xpert GBS (Cepheid®)

The collected swab was transferred to the designated chamber of the Xpert GBS cartridge, which was loaded into a Cepheid GeneXpert device, as recommended by the manufacturer. A trained physician performed all Xpert GBS assays. The result could be negative or positive based on the detection of the target gene sequence adjacent to the GBS *cfb* gene, as defined by the GeneXpert software. Xpert GBS performs automation and integration of sample lysis, amplification and purification of nucleic acids, and detection of the target sequence using real-time PCR. The total assay runtime was around 50 minutes.

### GBS culture

The collected swab was inoculated on blood agar plates and incubated at 37°C for 48 hours in a microbiological incubator. After incubation, the plates were inspected for the presence of beta-hemolytic colonies. If there was any suspicion of beta-hemolytic plaque growth after 48 hours, plaques were reincubated for another 24 hours and inspected again. Beta-hemolytic colonies whose morphology were consistent with GBS were subcultured and CAMP-tested<sup>10</sup>. CAMP-positive colonies were deemed presumably positive for GBS.

### Real-time polymerase chain reaction

#### *Sample preparation and DNA extraction*

The swabs were incubated for 18 to 24 hours into Todd Hewitt selective medium containing gentamicin and nalidixic acid. After centrifugation of the broth, the precipitate was washed with 1X PBS solution and centrifuged again. Then, the precipitate was washed with 1X Tris-EDTA (TE) solution, and DNA extracted by thermal lysis. The thermal lysis protocol was performed using TE solution for 15 min at 100°C followed by 15 min at -80°C to lyse bacterial cell walls. The quality and quantity of DNA extracted from samples were estimated spectrophotometrically in a Nanodrop ND-1000 system (Thermo Fisher Scientific, USA), at 260 nm (A260) and 280 nm (A280) absorbance, with the sample diluted to 5 ng/μL.

#### *Real-time polymerase chain reaction*

For the real-time PCR reaction, we used the *cfb* gene region that encodes the CAMP factor present in GBS. The primers used were 5'-TTT CAC CAG CTG TAT TAG AAG TA-3' and 5'-GTT CCC TGA ACA TTA TCT TTG AT-3'. For internal

control, a synthetic single-chain DNA (5'-ATC GCT GAT CCG GCC ACA TAT CGC GTT TAT GCG AGG TCG GGT GGG CGG GTC GTT AGT TTC GTT TTG GGC CTA CGT GGC CTT TGT CAC CGA-3') was used to detect amplification inhibition in all samples using the primers 5'-ATC GCT GAT CCG GCC ACA-3' and 5'-TCG GTG ACA AAG GCC ACG TA-3'.

The amplification reagents were prepared as follows: Platinum® SYBR® Green (Invitrogen) concentrated mix 6.25 µL, SBG primers 1.25 µL, ROX 1:50 0.25 µL, and DNase- and RNase-free water 2.5 µL; 0.5 µL of internal control (IC) solution and 0.75 µL of primers were added to the IC tube.

The extracted DNA solution was added to 10 µL of amplification reagents. Amplification and fluorescent detection were measured by real-time quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) in a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). The amplification was performed with one cycle at 50°C for 2 minutes for DNA polymerase activation, followed by one cycle at 95°C for 10 minutes for initial denaturation, than 40 cycles at 95°C for 15 sec and 60°C for 1 min for amplification, followed by two cycles at 95°C for 15 sec and 60°C for 15 sec for fluorescence detection and melting temperature (T<sub>m</sub>) measurement. Samples are considered positive when the amplification curve is detected and the T<sub>m</sub> is in the acceptable range (GBS T<sub>m</sub> 76-78°C and IC T<sub>m</sub> 82-84°C). The negative control should not have an amplification curve for the GBS target, while the positive control should be positive for the two targets tested. To ensure high sensitivity in the PCR, the cutoff point was set at a threshold cycle value of C<sub>t</sub>=40<sup>11,12</sup>.

## **STATISTICAL ANALYSES**

Sample size was calculated in WinPEPI Version 11.63, based on the findings of a previous study<sup>4</sup>. Considering a 16% prevalence of GBS positivity with the gold-standard method (culture) and 95% power to detect a 5% difference in prevalence of a positive result, with an estimated 10% attrition rate, the final sample size required was 230 participants. Agreement between assays was determined using the kappa and Cronbach's alpha coefficients. Statistical analyses were performed in PASW Statistics for Windows, Version 18.0. The sensitivity, specificity, negative predictive value, and positive predictive value of the tests were evaluated in accordance with STARD (Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy) initiative recommendations.

## **RESULTS**

The maternal characteristics and main neonatal outcomes are listed in Table 1 and Table 2. The median maternal age was 29 years (95%CI27.6-29.5); 39% were nulliparous, 73% were white, and 83% were single or not living with a partner. Women with a gestational age <35 weeks and any risk of preterm labor represented 48.5% of the sample.

Xpert GBS testing was performed in samples from 270 women; 75 (27.8%) were positive, 169 (62.6%) were negative, 1 (0.4%) was inconclusive, 21 (7.8%) yielded errors, and 4 (1.5%) had no result available, as shown in Table 3. The percentage of errors is justified by a known and reported problem with a specific batch of cartridges, while four samples were lost due to a power outage (no result).

Only the positive and negative results were included in the analysis. Considering these results alone, the overall prevalence of maternal GBS colonization

was 51.1% according to real-time PCR, 30.7% according to Xpert GBS, and 14.3% according to cultures (Table 3).

We compared the performance of the three tests considering valid results alone (Table 4). A total of 239 women were screened with both the Xpert GBS and real-time PCR. GBS colonization was detected in 124 (51.9%) with real-time PCR versus 74 (31.0%) with the Xpert GBS. Considering real-time PCR as the gold standard, the Xpert GBS had a sensitivity of 53.2% and a specificity of 93.0%. The positive predictive value was 89.2%, and the negative predictive value was 64.8%. The kappa coefficient between the two techniques indicates moderate agreement ( $\kappa=0.46$ ), with apparent low sensitivity and high specificity for the rapid test.

A total of 220 women were screened with both the Xpert GBS and culture methods with valid results. GBS colonization was detected in 66 patients (30.0%) by the Xpert GBS versus 34 (15.5%) with the culture method (Table 4). Considering culture as the gold standard, the Xpert GBS had a sensitivity of 61.8% and a specificity of 75.8%. The positive predictive value was 31.8%, and the negative predictive value was 91.6%. The kappa coefficient between the two techniques indicates fair agreement ( $\kappa=0.27$ ).

In this study, GBS colonization detected by real-time PCR was not associated with maternal characteristics, such as age, marital status, ethnicity, education attainment, and parity, nor with maternal or neonatal complications, such as chorioamnionitis and sepsis. Positive results with the Xpert GBS rapid test were associated with marital status (married or cohabitating) and with preterm delivery as a cause of neonatal hospitalization. Finally, ischemic–hypoxic encephalopathy and need for therapeutic hypothermia were associated with positive cultures (Table 5).



## DISCUSSION

The overall prevalence of GBS colonization varies depending on the studied population and the test used for screening. This variability may be related to various climatic, biological, sociocultural, geographic, and methodological determinants<sup>13,14</sup>. In Brazil, prevalence has been reported to range from 9 to 36%<sup>14–16</sup>. In one Brazilian study<sup>15</sup> that compared culture and PCR, only 9.5% of samples were positive for GBS by culture, while 32.6% were positive when using PCR methods. Our study population was restricted to patients of a public hospital that serves as a referral center for high-risk pregnancies, which may explain our finding of a much higher prevalence (51.1%) than is usually reported in the literature, considering the real-time PCR method. In fact, this is one of the highest prevalence values ever reported among Brazilian women. In a 2010 study<sup>4</sup> conducted at the same hospital as the present investigation but using the conventional PCR agarose gel technique, the prevalence of GBS was 27.0%—much lower than that found in the present study. However, this difference can be justified by the higher sensitivity of real-time PCR.

In a study<sup>17</sup> carried out among women in the Southeast region of Brazil, the prevalence of GBS by the culture method was around 18%, although only vaginal samples were collected. In an Italian sample of pregnant women<sup>18</sup>, about 20% were GBS-positive with the culture method. The prevalence of GBS by culture in the present study (14.3%) was similar to the results of previous studies<sup>4,15,17</sup>. The low prevalence of GBS positivity by culture methods as compared to other modalities may be justified by issues of technical execution, as the culture technique does not always follow CDC recommendations<sup>3</sup>, or perhaps because this method has a much lower sensitivity than PCR-based methods.

According to the CDC<sup>3</sup>, cultures are the gold-standard method for GBS screening in pregnant women at 35-37 weeks of gestational age. The CDC guidelines also cite other laboratory tests for GBS detection, including PCR methods. PCR-based approaches are gaining a promising role in GBS detection, largely due to their higher sensitivity<sup>6,14,19</sup>. A European consensus statement noted that failure to treat GBS-positive mothers could lead to serious adverse neonatal outcomes. Thus, it seems reasonable to consider methods with higher sensitivity even if they are associated with more false-positive results.

On comparison of the Xpert GBS to real-time PCR, we found a high degree of agreement on negative results (93% specificity), but only reasonable agreement on positive results (53% sensitivity). These discordant results can be justified by the higher sensitivity of the combined sample enrichment/PCR method. As the maternal pathogen load that characterizes actual risk of neonatal infection is unknown, it is unclear whether a real need exists to increase the sensitivity of rapid tests or if their current parameters are sufficient to support clinical decision-making.

Considering culture as the gold standard, the Xpert GBS showed a sensitivity of 62% and a specificity of 76% in this study. According to Gavino<sup>20</sup>, the sensitivity and specificity of the Xpert GBS were 95.8% and 64.5% respectively, while those of antenatal cultures were 83.3% and 80.6% respectively. Mueller<sup>21</sup> found a sensitivity of 85.7% and a specificity of 95.6% for the Xpert GBS compared to culture. These divergent results suggest that additional studies are needed to evaluate this method.

In a previous evaluation<sup>18</sup> of the performance of the Xpert GBS rapid test when performed intrapartum, 13.4% of performed tests failed to yield a valid result on the first attempt (7.3% erroneous, 4.4% invalid, and 1.6% yielded no result). Another

study<sup>22</sup> reported an invalid result rate of 13.6%, while Mueller<sup>21</sup> reported 13.4% after a 2-hour training session on thermocycler operation. In the present study, 90.4% of tests were valid; the remainder were 0.4% inconclusive, 7.8% erroneous, and 1.5% yielded no result. Although some of the errors found in this study are justified by known problems with a batch of Xpert cartridges, the percentage of invalid tests is consistent with previous reports in the literature.

Positive GBS test results were not associated with neonatal sepsis in this study. Considering that GBS infection can be very serious and affects approximately 2% of newborns whose mothers are colonized, a larger sample would almost certainly be needed to demonstrate this association; more probably, the absence of association found in this sample suggests that intrapartum antibiotic prophylaxis is effectively preventing neonatal infection by GBS.

## **CONCLUSION**

We found a high prevalence of GBS colonization with PCR-based tests. According to real-time PCR with prior sample enrichment, 51.1% of samples were positive for GBS. This is among the highest prevalence values ever reported in Brazilian women; additional studies using the same technique are warranted to confirm these findings.

On the other hand, in this study the Xpert GBS test detected a prevalence of GBS colonization among Brazilian women similar to that found in the literature (around 30%). We conclude that the Xpert GBS test may be an option for rapid diagnosis, especially in women at risk for preterm labor and women presenting in labor who did not undergo prenatal GBS testing. This would allow initiation of appropriate antibiotic therapy, as well as reduce hospital costs and prevent

development of bacterial resistance to antimicrobials. Furthermore, this would protect asymptomatic newborns whose mothers do not have GBS results available from undergoing unnecessary investigations.

Bacterial cultures for GBS detection, which are currently considered the gold-standard method by the CDC, may be replaced by more sensitive and specific methods, such as different PCR-based techniques.

Several factors interfere with the results of the different tests available for GBS detection. Additional studies are needed to compare the performance of these tests, as well as to compare their findings with clinical outcomes.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

This work was supported by *Fundo de Incentivo à Pesquisa e Ensino, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA)* and *Programa de Apoio à Pós-Graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PROAP/UFRGS)*.

## REFERENCES

1. Kwatra, G. *et al.* Prevalence of maternal colonisation with group B streptococcus: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* **16**, 1076–1084 (2016).
2. Verani, J. R. & Schrag, S. J. Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. *Clin. Perinatol.* **37**, 375–392 (2010).
3. Verani, J. R., McGee, L. & Schrag, S. J. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* **59**, 1–36 (2010).
4. de-Paris, F. *et al.* Group B Streptococcus detection: comparison of PCR assay and culture as a screening method for pregnant women. *Braz. J. Infect. Dis.* **15**, 323–327 (2011).
5. Ke, D. *et al.* Development of conventional and real-time PCR assays for the rapid detection of group B streptococci. *Clin. Chem.* **46**, 324–331 (2000).
6. Munari F. M. de-Paris F. Salton G. D. Lora P. S. Giovanella P. Machado A. B. M. P. Laybauer L. S. Oliveira K. R. P. Ferri C. Silveira J. L. S. Laurino C. C. F. C. Xavier R. M. Barth A. L. Echeverrigaray S. Laurino, J. P. A combined enrichment/polymerase chain reaction based method for the routine screening of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. *Braz. J. Microbiol.* **43**, 253–260 (2011).
7. El Helali, N., Nguyen, J.-C., Ly, A., Giovangrandi, Y. & Trinquart, L. Diagnostic accuracy of a rapid real-time polymerase chain reaction assay for universal intrapartum group B streptococcus screening. *Clin. Infect. Dis.* **49**, 417–423 (2009).
8. Edwards, R. K. *et al.* Rapid group B streptococci screening using a real-time polymerase chain reaction assay. *Obstet. Gynecol.* **111**, 1335–1341 (2008).
9. Endocrimeta®. Available at: [www.endocrimeta.com.br](http://www.endocrimeta.com.br).
10. Phillips, E. A., Tapsall, J. W. & Smith, D. D. Rapid tube CAMP test for identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B). *J. Clin. Microbiol.* **12**, 135–137 (1980).
11. Yeung, S.-W. *et al.* Evaluation of an in-house real-time polymerase chain reaction method to identify group B streptococcus colonization in pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **41**, 1357–1362 (2015).
12. Meehan, M. *et al.* Real-time polymerase chain reaction and culture in the diagnosis of invasive group B streptococcal disease in infants: a retrospective study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 2413–2420 (2015). doi:10.1007/s10096-015-2496-5
13. Sharmila, V., Joseph, N. M., Arun Babu, T., Chaturvedula, L. & Sistla, S. Genital tract group B streptococcal colonization in pregnant women: a South Indian

- perspective. *J. Infect. Dev. Ctries.* **5**, 592–595 (2011).
14. Wollheim, C. *et al.* Group B Streptococcus detection in pregnant women via culture and PCR methods. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **50**, 179–183 (2017).
  15. Castellano-Filho, D. S., da Silva, V. L., Nascimento, T. C., Vieira, M. de T. & Diniz, C. G. Detection of group B Streptococcus in Brazilian pregnant women and antimicrobial susceptibility patterns. *Braz. J. Microbiol.* **41**, 1047–1055 (2010).
  16. Melo, S. C. C. S. de *et al.* Prevalence of Streptococcus agalactiae colonization in pregnant women from the 18th Health Region of Paraná State. *Journal of the Sao Paulo Institute of Tropical Medicine* **60**, (2018).
  17. Zusman, A. S., Baltimore, R. S. & Fonseca, S. N. S. Prevalence of maternal group B streptococcal colonization and related risk factors in a Brazilian population. *Braz. J. Infect. Dis.* **10**, 242–246 (2006).
  18. Picchiassi, E. *et al.* Intrapartum test for detection of Group B Streptococcus colonization during labor. *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* **31**, 3293–3300 (2017). doi:10.1080/14767058.2017.1369041
  19. Feuerschuette, O. H. M., Silveira, S. K., Cancelier A. C. L., da Silva R. M., Trevisol D. J., & Pereira J. R. Diagnostic yield of real-time polymerase chain reaction in the diagnosis of intrapartum maternal rectovaginal colonization by group B Streptococcus: a systematic review with meta-analysis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **91**, 99–104 (2018).
  20. Gavino, M. & Wang, E. A comparison of a new rapid real-time polymerase chain reaction system to traditional culture in determining group B streptococcus colonization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **197**, 388.e1–4 (2007).
  21. Mueller, M. *et al.* Intrapartum detection of Group B streptococci colonization by rapid PCR-test on labor ward. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **176**, 137–141 (2014).
  22. Plainvert, C. *et al.* Intrapartum group B Streptococcus screening in the labor ward by Xpert® GBS real-time PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **37**, 265–270 (2018).

## FIGURES

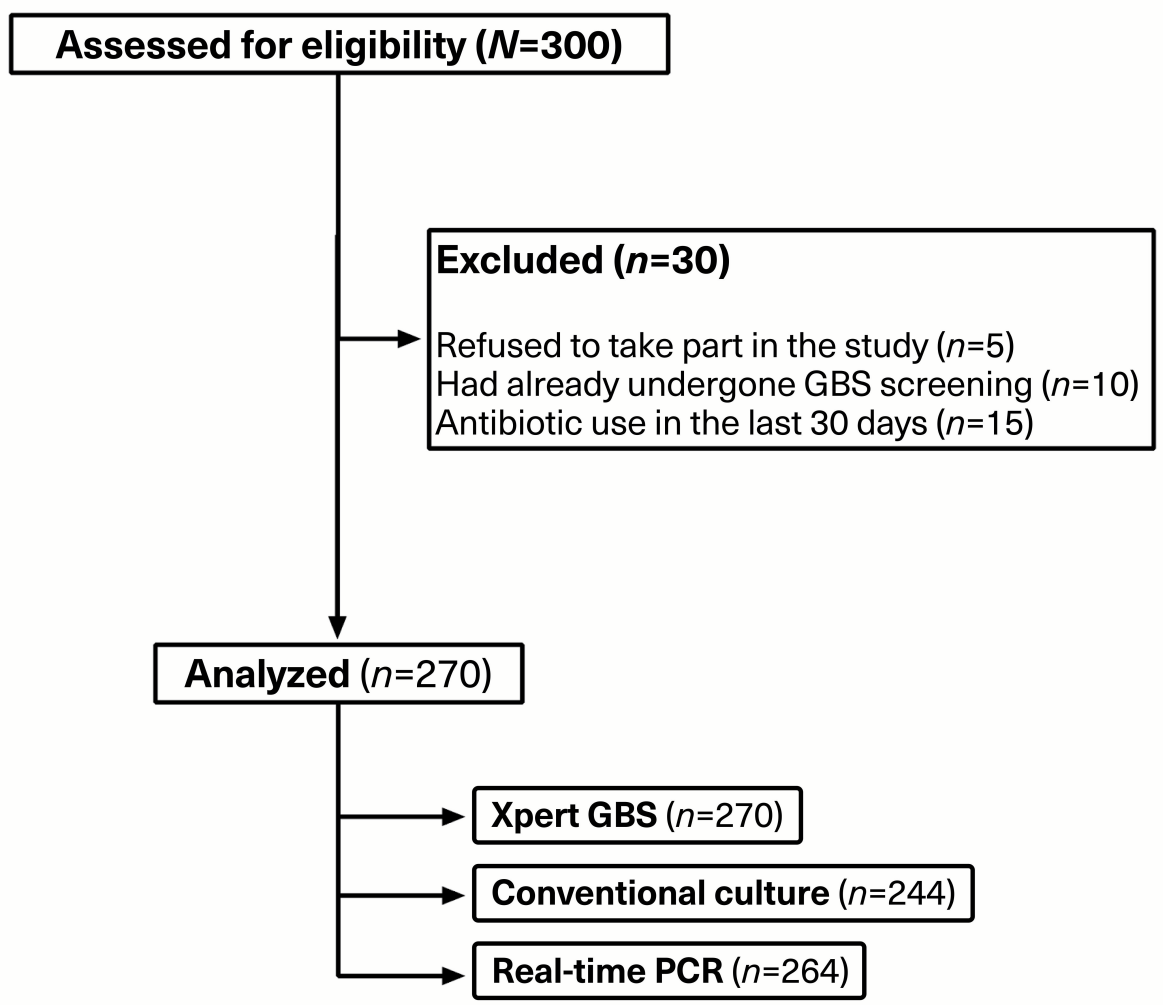


Figure 1. Patient selection flowchart

## TABLES

**Table 1. Obstetric data of the women included in the study.**

<b>Variable</b>	<b>Total (n=270)</b>
Age (years), md[95%CI]	29.0[27.6–29.5]
Race/ethnicity, n(%)	
White	196(72.6)
Nonwhite	74(27.4)
Marital status, n(%)	
Single	223(82.6)
Married or cohabitating	47(17.4)
Educational attainment, n(%)	
Incomplete primary education	64(23.7)
Completed primary education	48(17.8)
Incomplete secondary education	38(14.1)
Completed secondary education	83(30.7)
Incomplete higher education	24(8.9)
Completed higher education	13(4.8)
Gestational age at sampling (days), md[95%CI]	245.0[237.3–249.3]
Gestational age < 35 weeks (days), n(%)	131(48.7)
Gestational age at birth (days), md[95%CI]	270.0[261.5–266.5]
Parity, n(%)	
Nulliparous	106(39.3)
Primiparous	72(26.7)
Multiparous	92(34.1)
Number of antenatal appointments, md[95%CI]	8.0[7.9–8.8]
Mode of delivery, n(%)	
Cesarean	134(49.6)
Vaginal	126(46.7)
Missing	10(3.7)
Complications, n(%)	
Yes	33(12.2)
No	227(84.1)
Missing	10(3.7)
Type of complications, n(%)	
Uterine hypotonicity	21(7.8)
Chorioamnionitis	6(2.2)
Reintervention	4(1.5)
ICU admission	2(0.7)
Postpartum fever	2(0.7)
Endometritis	1(0.4)
Sample collection setting – n(%)	
Inpatient	103(38.1)
Outpatient	167(61.9)

n, absolute frequency; %, relative frequency; md, median; 95%CI, 95% confidence interval; ICU, Intensive Care Unit.



**Table 2. Fetal characteristics and neonatal outcomes.**

<b>Variables</b>	<b>Total (N=282)*</b>
Prematurity – n(%)	
Yes	84(29.8)
No	187(66.3)
Missing	11(3.9)
Preterm birth – n(%)	
Extremely preterm (GA ≤194 days)	4(4.8)
Very preterm (GA 195-223 days)	7(8.3)
Moderate to late preterm (GA 224-258 days)	73(86.9)
Fetal malformations – n(%)	
Yes	11(3.9)
No	271(96.1)
Birthweight – n(%)	
Extremely low (≤999 g)	5(1.8)
Very low (1000–1499 g)	4(1.4)
Low (1500–2499 g)	67(23.8)
Adequate (≥2500 g)	195(69.1)
Missing	11(3.9)
Neonatal death – n(%)	
Yes	7(2.5)
No	262(92.9)
Fetal death	2(0.7)
Missing	11(3.9)
Apgar score, 5-minute – md[95%CI]	8.9[8.8–9.1]
Neonatal asphyxia– n(%)	
Yes	17(6.1)
No	221(78.9)
Missing	42(15.0)
NICU admission – n(%)	
Yes	92(32.6)
No	176(62.4)
Fetal death	2(0.7)
Missing	12(4.3)
Cause of NICU admission – n(%)	
Respiratory distress	49(53.3)
Jaundice	20(21.7)
Prematurity	20(21.7)
Sepsis	19(20.7)
Fetal falformation	11(12.0)
Congenital syphilis	10(10.9)
Hypoglycemia	9(9.8)
Low birthweight	3(3.3)
Maternal condition	2(2.2)
Cyanosis and hypertonia	1(1.1)
Workup of cutaneous lesions	1(1.1)
Workup of urinary tract malformation	1(1.1)
Ischemic–hypoxic encephalopathy	1(1.1)

Causes of neonatal death – n(%)

Fetal malformation

5(71.4)

Extreme prematurity

2(28.6)

---

n, absolute frequency; %, relative frequency; md, median; 95%CI, 95% confidence interval; NICU, Neonatal Intensive Care Unit; \*n=282, including twins.

**Table 3. Results of antepartum GBS screening by real-time PCR, Xpert GBS, and culture.**

<b>Variable</b>	<b>Total (n=810)</b>	<b>Real-time PCR (n=270)</b>	<b>Xpert GBS (n=270)</b>	<b>Culture (n=270)</b>
<b>Status – n(%)</b>				
Positive	245(30.2)	135(50.0)	75(27.8)	35(13.0)
Negative	507(62.6)	129(47.8)	169(62.6)	209(77.4)
Inconclusive	1(0.0)	0(0.0)	1(0.4)	0(0.0)
Error	21(2.6)	0(0.0)	21(7.8)	0(0.0)
No result	4(0.5)	0(0.0)	4(1.5)	0(0.0)
Not done	32(4.0)	6(2.2)	0(0.0)	26(9.6)
<b>Valid results – n</b>	<b>752</b>	<b>264</b>	<b>244</b>	<b>244</b>
Positive	245(32.6)	135(51.1)	75(30.7)	35(14.3)
Negative	507(67.4)	128(48.9)	169(69.3)	209(85.7)

PCR, polymerase chain reaction; n, absolute frequency; %, relative frequency.

**Table 4. Pairwise comparisons between diagnostic tests used for GBS screening.**

	n(%)	Real-time PCR			*p-value	Kappa	Cronbach's $\alpha$
		Positive	Negative	Total			
<b>Xpert GBS</b>	Positive	<b>66(53.0)</b>	8(7.0)	74(31.0)	$\leq 0.0001$	0.456	0.665
	Negative	58(47.0)	<b>107(93.0)</b>	165(69.0)			
	Total	124(100.0)	115(100.0)	239(100.0)			
	n(%)	Real-time PCR			*p-value	Kappa	Cronbach's $\alpha$
		Positive	Negative	Total			
<b>Culture</b>	Positive	<b>31(25.4)</b>	3(2.5)	34(14.2)	$\leq 0.0001$	0.226	0.471
	Negative	91(74.6)	<b>115(97.5)</b>	206(85.8)			
	Total	122(100.0)	118(100.0)	240(100.0)			
	n(%)	Xpert GBS			*p-value	Kappa	Cronbach's $\alpha$
		Positive	Negative	Total			
<b>Culture</b>	Positive	<b>21(31.8)</b>	13(8.4)	34(15.5)	$\leq 0.0001$	0.271	0.447
	Negative	45(68.2)	<b>141(91.6)</b>	186(84.5)			
	Total	66(100.0)	154(100.0)	220(110.0)			

n, absolute frequency; %, relative frequency; PCR, polymerase chain reaction; p, statistical significance; \*Chi-square test with adjusted residual values.

**Table 5. Correlations between obstetric characteristics and GBS positivity.**

Items	Xpert GBS		Real-time PCR		Culture	
	Coefficient	*p-value	Coefficient	*p-value	Coefficient	*p-value
Age	-0.075	0.242	0.036	0.561	0.047	0.464
Educational level	0.013	0.837	0.039	0.531	0.065	0.314
Single or not living with a partner	<b>-0.143</b>	<b>0.025</b>	-0.059	0.342	-0.040	0.535
Black ethnicity	0.094	0.141	0.054	0.385	0.037	0.562
Parity	-0.002	0.970	0.012	0.844	-0.091	0.154
Maternal complications	-0.087	0.183	-0.012	0.850	0.071	0.279
Chorioamnionitis	0.027	0.680	0.047	0.456	0.008	0.906
Endometritis	-0.044	0.499	0.061	0.334	-0.027	0.676
Intrapartum fever	0.037	0.573	-0.003	0.964	0.091	0.164
Neonatal complications	0.095	0.146	0.009	0.888	-0.002	0.971
NICU admission	-0.099	0.133	0.011	0.867	-0.031	0.641
Cause of NICU admission						
Sepsis	0.035	0.761	-0.053	0.629	0.061	0.587
Prematurity	<b>0.242</b>	<b>0.031</b>	-0.111	0.310	-0.003	0.976
Respiratory distress	-0.101	0.371	-0.028	0.800	-0.153	0.172
Ischemic–hypoxic encephalopathy	0.195	0.083	0.104	0.343	<b>0.282</b>	<b>0.011</b>
Hypothermia protocol	0.097	0.139	0.061	0.334	<b>0.156</b>	<b>0.017</b>

PCR, polymerase chain reaction; n, absolute frequency, %, relative frequency; NICU, Neonatal Intensive Care Unit; p, index of statistical significance; \*Spearman correlations. Significance set at 5% for all analyses.

## **12. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A utilização de métodos baseados em PCR surge como uma alternativa ao método convencional – a cultura, e parecem apresentar maior sensibilidade e boa especificidade em relação a cultura na detecção do SGB. No nosso estudo, encontramos uma alta prevalência de SGB com a técnica de PCR em tempo real com enriquecimento prévio da amostra (51,1%), enquanto o método Xpert GBS detectou 30,7% de resultados positivos e a cultura apenas 14,3%. Neste estudo, dependendo do método considerado - cultura ou PCR em tempo-real -, o Xpert GBS apresentou sensibilidade de 53% a 62% e especificidade de 76 a 93%.

### **13. PERSPECTIVAS**

A utilização um teste rápido para identificação do SGB como o Xpert GBS proporciona resultados diagnósticos em até 50 minutos e pode ser útil na avaliação de gestantes em trabalho de parto que não realizaram o exame no seu pré-natal e também naquelas que estão em risco de trabalho de parto prematuro. Dessa forma seria possível administrar antibióticos adequadamente e promover proteção adequada aos neonatos, sem uso indiscriminado das medicações. Mais estudos são necessários para avaliar o método e determinar sua aplicabilidade, bem como análise de custo-efetividade também seria de relevante importância.

## 14. ANEXO

### INSTRUMENTO DE PESQUISA

*Streptococcus* do grupo B: comparação entre teste rápido, cultura e PCR no rastreamento pré-natal

Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Professora responsável: Edimárlei Gonsales Valério

<b>Critério de inclusão:</b>	Gestante com IG $\geq$ 24 semanas?	(1) Sim	(2) Não
<b>Critério de exclusão:</b>	Utilizou antibioticoterapia nos últimos 30 dias?	(1) Sim	(2) Não

<b>Nome completo:</b>	
<b>Prontuário:</b>	
<b>Data de nascimento:</b> _____. _____. _____	<b>Data da inclusão:</b> _____. _____. 2017

<b>Endereço:</b>		<b>Cidade:</b>				
<b>Telefone:</b> ( )						
<b>Escolaridade:</b>						
(1) Nenhum	(2) 1º Grau Incompleto	(3) 1º Grau Completo	(4) 2º Grau Incompleto			
(5) 2º Grau Completo	(6) Superior incompleto	(7) Superior Completo	(8) Ignorado			
<b>Cor:</b>						
(1) Branca	(2) Preta	(3) Parda	(4) Amarela	(5) Indígena	(6) Sem declaração	
<b>Estatu marital:</b>						
(1) Casada	(2) Solteira	(3) Separada	(4) Desquitada ou separada judicialmente	(5) Viúva	(6) Namorada	(7) Outro: _____

<b>Coleta:</b>			
Internação (1)		Ambulatorial (2)	
<b>Se internação, especificar motivo principal:</b>			
TPP (1)	Bolsa rota (2)	CIUR (3)	DHEG (4)
DMG/DM2/DM1 (5)	Síndromes Genéticas (6)	(7) _____	(8): _____
<b>Idade Gestacional na coleta do exame:</b>		_____ sem + _____ dias	<b>Total (dias):</b>
<b>Data da 1ª ecografia:</b>		_____ sem + _____ dias	<b>Total (dias):</b>
<b>Paridade:</b>		Gestações (nº): ____ Partos (nº): ____ Cesarianas (nº): ____ Abortos (nº): ____ Ectópica (nº): ____	
<b>Antibioticoterapia empírica para Strepto B (antes do resultado da coleta)?</b>		(1) Sim	(2) Não



RESULTADOS DE EXAMES			
<b>Resultado do Teste Rápido:</b>			
Positivo (1)	Negativo (2)	Inconclusivo (3)	Erro (4)
<b>Resultado do PCR:</b>			
Positivo (1)	Negativo (2)		
<b>Resultado da Cultura:</b>			
Positivo (1)	Negativo (2)	Não realizado (3)	

Nº de consultas de pré-natal:	_____	Data do parto:	____.____.2017	
IG nascimento:	_____ sem + _____ dias	Total (dias):	_____	
Uso de corticóide?	(1) Sim	(2) Não	IG do uso de corticóide:	____ semanas + ____ dias
Gemelar atual?	(1) Sim	(2) Não	Total (dias):	_____

PATOLOGIAS MATERNAS								
DMG/DM2 ou DM1	(1) Sim	(2) Não	DHEG	(1) Sim	(2) Não	Anemia com Hb prévia < 11?	(1) Sim	(2) Não
SIDA	(1) Sim	(2) Não	HIV +	(1) Sim	(2) Não		(1) Sim	(2) Não
	(1) Sim	(2) Não		(1) Sim	(2) Não		(1) Sim	(2) Não

INDUÇÃO DO PARTO		(1) Sim	(2) Não		
Método de indução:	(1) Sonda	(2) Misoprostol vaginal	(4) Misoprostol oral	(8) Ocitocina	Total (soma): _____

TRABALHO DE PARTO					
Correção do TP com ocitocina	(1) Sim			(2) Não	
Uso de antibiótico no trabalho de parto?	(1) Sim			(2) Não	
Motivo do uso do antibiótico	(1) Profilaxia empírica SGB		(2) SGB +	(3) Corioamnionite	(4) _____
Se uso de antibiótico, especificar qual (is):					
(1) Ampicilina	(2) Cefazolina	(4) Amicacina	(8) Clindamicina	(16) _____	Total (soma): _____
Febre intraparto >ou= a 38°C?	(1) Sim			(2) Não	
Nº de toques vaginais:	_____	Tempo de bolsa rota até o nascimento (horas):		_____	
Parto:	(1) Cesariano			(2) Normal	
AP de Placenta?	(1) Sim			(2) Não	
Resultado do AP:	(1) Vascular	(2) Infeccioso/Inflamatório	(4) _____	Total (soma):	_____

RECÉM-NASCIDO				
Prontuário	_____			
Sexo	(1) Feminino	(2) Masculino	Peso (gramas):	_____
Apgar	___/___/___	Gasometria PH:	Gasometria Excesso de Base:	_____

COMPLICAÇÕES MATERNAS									
Hipotonia uterina / sangramento aumentado	(1) Sim	(2) Não	Necessidade de Reintervenção (retorno à sala de parto)		(1) Sim	(2) Não	Sepse	(1) Sim	(2) Não
Internação em UTI	(1) Sim	(2) Não	Corioamnionite	(1) Sim	(2) Não	Endometrite		(1) Sim	(2) Não
Sutura de B-Lynch?	(1) Sim	(2) Não	Febre no pós-parto (Tax > 38°C?)					(1) Sim	(2) Não
Tempo de internação materna (dias):			_____	Início de antibiótico após o nascimento?			(1) Sim	(2) Não	
Tempo de início de antibiótico após o nascimento (horas):									
Quais antibióticos? Outros além dos listados abaixo?									
(1) Ampicilina	(2) Gentamicina	(4) Amicacina	(8) Metronidazol	(16) Clindamicina	Total (soma):				

COMPLICAÇÕES DO RECÉM-NASCIDO									
Sepse (1)	Icterícia (2)	Disfunção respiratória (4)		Hipoglicemia (8)		Total (soma):			
Morte do RN?		(1) Sim	(2) Não	Outras Complicações?					
Internação em UTI neo?		(1) Sim	(2) Não	Manobras de reanimação?		(1) Sim	(2) Não		
Se internação em UTI Neo, qual o motivo?									
Sepse (1)	Icterícia (2)	Disfunção respiratória (4)		Hipoglicemia (8)		Mal-formação (16)			
Observação (gasometria alterada) (32)				Outros? _____		Total (soma):			
Tempo de internação na UTI neo (dias):			_____	Tempo de internação total (dias):			_____		
Uso de antibiótico?			(1) Sim			(2) Não			
Quais antibióticos?			Outros além dos listados abaixo?						
(1) Ampicilina	(2) Gentamicina	(4) Amicacina	(8) Metronidazol	(16) Clindamicina	Total (soma):				
Culturais?	(1) Sim	(2) Não	Especificar:						
Infecção por strepto B?		(1) Sim	(2) Não	Protocolo de hipotermia?		(1) Sim	(2) Não		