



UFRR

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE-PROCISA

JOAO VICTOR DA COSTA ALECRIM

ABCs TRANSPORTADORAS DO *Streptococcus agalactiae* DO GRUPO B:
Caracterização Proteômica

Boa Vista, RR
2022

JOAO VICTOR DA COSTA ALECRIM

ABCs TRANSPORTADORAS DO *Streptococcus agalactiae* DO GRUPO B:
Caracterização Proteômica

Dissertação apresentada como pré-requisito para
obtenção do título de Mestre em Ciências da
Saúde Programa de Pós-graduação em Ciências
da Saúde-PROCISA da Universidade Federal de
Roraima

Orientador: Prof. Dr. Silas Fernandes Eto

Coorientadora: Prof. Dr^a. Fabíola Christian
Almeida de Carvalho

Boa Vista, RR
2022

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

A366a Alecrim, João Victor da Costa.
ABCs transportadoras do *Streptococcus agalactiae* do grupo B :
caracterização proteômica / João Victor da Costa Alecrim. – Boa Vista,
2022.
43 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Silas Fernandes Eto.
Coorientadora: Profa. Dra. Fabíola Christian Almeida de Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1 – Enzima. 2 – Fator de virulência. 3 – Gram positiva. 4 –
Meningite. I – Título. II – Eto, Silas Fernandes (orientador). III –
Carvalho, Fabíola Christian Almeida de (coorientadora).

CDU – 616.981.23

JOAO VICTOR DA COSTA ALECRIM

ABCs TRANSPORTADORAS DO *Streptococcus agalactiae* DO GRUPO B:
Caracterização Proteômica

Dissertação apresentada como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde-PROCISA da Universidade Federal de Roraima. Defendida em 10 de outubro de 2021 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Fabíola Christian Almeida de Carvalho
Coorientadora / PROCISA – UFRR

Prof^a. Dr^a. Georgia Patricia da Silva Ferko
Membro Interno / PROCISA – UFRR

Prof. Dr. Carlos Antonio Feu Galiasso
Universidade Estadual de Roraima - UERR

Dedico este trabalho aos meus pais, Victor e Alzira; aos meus irmãos, Julia, Bisneto, Palloma e Barbara; e a todos aqueles que torceram pelo sucesso dessa carreira que está em construção. Amo vocês em toda eternidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me proporcionou força e coragem para enfrentar todas as provações da vida e que também me apresentou pessoas que me ajudaram durante toda minha formação, fosse ela acadêmica, profissional ou moral.

Faltam-me palavras para agradecer aos meus pais, Victor (*in memoriam*) e Alzira, por me ensinarem os valores que foram base para chegar até aqui e também por me proteger e regar com amor e afeto, independente do plano que estão para todo o infinito eu amo vocês.

Ao meu orientador Professor Doutor Silas Fernandes Eto que me acolheu nos momentos de maior dificuldade que tive nesses anos, não desistiu de mim mesmo após sua saída do programa e mostrou através da sua humildade e brilhantismo o que é ser um professor/pesquisador de verdade, ao senhor minha eterna gratidão e admiração, obrigado por ter sido esse pai acadêmico.

A minha coorientadora Professora Doutora Fabíola Christian Almeida Carvalho, por sempre se dispor a ajudar e por conduzir o nosso programa a um alto padrão de qualidade, nos orgulhando de ter o título de mestre por esta instituição.

Aos meus irmãos, Victoria, por ser meu incentivo diário para acordar e dar meu melhor e poder ser seu modelo de inspiração, além de me dar forças, mesmo sem perceber, para não desistir naqueles momentos que nisso pensei e Bisneto, Barbara e Palloma, por me incentivarem e vibrarem por mim em todas as minhas vitórias e aos demais familiares que entendem a importância disso tudo e se alegraram com todas as minhas conquistas.

Aos amigos e alunos que estiveram ao meu lado, contribuindo das mais diversas formas para o êxito, vocês contribuíram fortemente como fator motivador para essa conquista.

Ao meu grupo dentro do PROCISA, Amanda e Ingrid, que além de serem excelentes parceiras acadêmicas, ajudaram a tornar o processo mais agradável com a boa companhia e as risadas.

Apressa-te a viver bem e pensa que
cada dia é, por si só, uma vida.
(Sêneca)

RESUMO

A infecção por *Streptococcus agalactiae* do Grupo B (*GBS*) é um problema grave para a saúde pública. Os fatores de virulência são importantes para o sucesso da infecção e, o metabolismo microbiano, é fundamental para a manutenção de tais fatores, como por exemplo as proteínas transportadoras ABCs que tem como função a nutrição bacteriana e excreção de exotoxinas. No presente estudo, caracterizamos por espectrometria de massas, as proteínas ABCs do *GBS*. Para tal, nós separamos as proteínas de membrana e citoplasmática do *GBS* e analisamos a distribuição espacial e topológica destas proteínas. Nossos resultados mostraram que em condições ideais de crescimento bacteriano a produção das proteínas ABCs foi direcionada para o transporte da maltose, glutamina e magnésio, e estes achados podem contribuir para o desenvolvimento de vacinas e novas drogas antimicrobianas.

Palavras-chave: Enzima. Fator de virulência. Gram positiva. Meningite.

ABSTRACT

Group B Streptococcus agalactiae (GBS) infection is a serious public health problem. Virulence factors are important for the success of the infection, and microbial metabolism is essential for the maintenance of these factors, such as the ABC transport proteins, whose function is bacterial nutrition and excretion of exotoxins. In the present study, we characterized by mass spectrometry the ABC proteins of GBS. For this, we separated the GBS membrane and cytoplasmic proteins and analyzed the spatial and topological distribution of these proteins. Our results showed that, under ideal conditions of bacterial growth, the production of ABC proteins was directed towards the transport of maltose, glutamine and magnesium, and these findings may contribute to the development of vaccines and new antimicrobial drugs.

Keywords: Enzyme. Virulence factor. Gram positive. Meningitis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição espacial das proteínas transportadoras ABCs do <i>Streptococcus</i>	<i>do</i>	<i>Grupo</i>
<i>B</i>		25
Figura 2. Interação proteína-proteína das ABCs transportadoras do <i>Streptococcus</i>	<i>do</i>	<i>Grupo</i>
<i>B</i>		28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de aminoácidos do *Streptococcus* do Grupo

B......30

Tabela 2. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de açúcares do *Streptococcus* do Grupo

B......31

Tabela 3. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de Minerais do *Streptococcus* do Grupo

B......31

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC *ATP-binding cassette*

BHI *Brain Heart Infusion*

CP *Cápsula de Polissacarídeos*

GBS *Group B Streptococcus*

PBS *Phosphate-buffered Saline*

PSM *Peptide spectrum matches*

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1. <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> E SAÚDE HUMANA	14
3.1.1. Manifestações Clínicas	14
3.1.2. Infecção por GBS em idosos	16
3.1.3. Infecções por GBS e gestantes	16
3.1.4. Infecções por GBS e neonatos	17
3.2. <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i> E ANIMAIS	18
3.2.1. Infecções por GBS e animais aquáticos	18
3.2.2. Infecções por GBS e bovinos	19
3.2.3. Infecções por GBS e outros animais exóticos	20
3.3 PROTEÍNAS ABCs	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1. BACTÉRIA	22
3.2. PROTEÔMICA	23
3.3. BIOINFORMÁTICA	23
3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
BIBLIOGRAFIA	33

1. INTRODUÇÃO

A meningite neonatal é uma doença grave e está associada a índices elevados de mortalidade e morbidade em países subdesenvolvidos e desenvolvidos (WHO et al., 2019). O *Streptococcus* do Grupo B (GBS) é responsável por dois terços dos óbitos em recém-nascidos e sua ação no sistema nervoso central, leva ao surgimento de danos teciduais, causando sequelas neurológicas graves nos pacientes (Tavares et al., 2022).

A capacidade de sobrevivência intracelular do GBS nos macrófagos do hospedeiro e o uso desta célula para transpor a barreira hematoencefálica e infectar as meninges é a base do processo fisiopatológico da meningite bacteriana, causada por este patógeno (Maisey and Doran, 2008). Esse processo é estreitamente dependente dos fatores de virulência, incluindo a cápsula de polissacarídeo (CP), e o uso de um arsenal enzimático para a dismutação do superóxido e bloqueio da atividade fagolisossômica do fagocito do hospedeiro (Eto et al., 2021).

Neste contexto, os fatores de virulência são dependentes do metabolismo microbiano para a progressão da infecção, e as proteínas transportadoras ABCs desempenham um papel importante na sobrevivência do patógeno no hospedeiro e, conseqüentemente, no sucesso da infecção.

Posto isto, as proteínas transportadoras ABCs compreendem uma superfamília de proteínas conservadas evolutivamente que vão desde as bactérias aos seres humanos (Dassa e Bouige, 2001). Essas proteínas transmembranares utilizam a energia resultante da hidrólise de adenosina trifosfato (ATP) para transportar uma variedade de moléculas através de membranas biológicas, incluindo aminoácidos, açúcares, peptídeos, lipídeos, íons e drogas quimioterapêuticas (Higgins, 1992). Uma de suas características é o movimento das moléculas através dessas transportadoras pode ser para dentro (importação) ou para fora (exportação, secreção) (Holland e Blight, 1999; Saurin *et al.*, 1999).

As proteínas ABCs estão envolvidas em muitos processos celulares. Em sistemas procaríotas, esses transportadores podem exportar substratos, como drogas e antibióticos, ou mediar a absorção de nutrientes essenciais (Sheps e Ling, 2007) como histidina, maltose, peptídeos ou ribose (Ehrmann *et al.* 1998; Holland e Blight, 1999).

A maioria das transportadoras ABCs funcionam quase exclusivamente como exportadoras, mediando o transporte de substratos do citosol para fora da célula ou para organelas intracelulares (Saurin *et al.*, 1999; Sheps e Ling, 2007). Alguns transportadores ABCs encontradas em bactérias, fungos patogênicos e parasitos estão envolvidos na resistência a drogas antimicrobianas (Klokouzas *et al.*, 2003; Lage, 2003; McKeegan *et al.*, 2004).

Finalmente, a capacidade de GBS em infectar várias espécies e se adaptar aos diferentes mecanismos de defesa entre as diferentes espécies aquáticas ou terrestres mostra a importância de validar alvos moleculares que sejam promissores para a terapêutica da meningite bacteriana causada por GBS. Portanto, o estudo das proteínas ABCs podem fundamentar o desenvolvimento de novos medicamentos sintéticos e biofármacos com potencial de neutralizar o patógeno e modular a resposta neuroinflamatória sem a geração da resistência microbiana.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar e caracterizar as proteínas ABCs transportadoras do *Streptococcus Agalactiae*.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Caracterizar por espectrometria de massas as proteínas ABCs associadas ao transporte de aminoácidos do *Streptococcus Agalactiae*;
- Realizar um estudo estrutural e da drogabilidade destas proteínas;
- Apontar possíveis alvos moleculares para o uso em engenharia farmacêutica e enzimática;
- Registrar como produto técnico a patente dos resultados obtidos.
- Publicar como produto técnico em revista científica de alto impacto os dados obtidos na pesquisa

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* E SAÚDE HUMANA

3.1.1. Manifestações Clínicas

O *Streptococcus* do Grupo B (GBS) reside como um comensal das vias gastrointestinais e geniturinárias dos seres humanos, mantendo, porém, a capacidade de causar infecções graves. Estas são frequentemente de natureza oportunista, afetando diferentes públicos – de idosos a imunocomprometidos –, e, particularmente os neonatos, para os quais o GBS é uma causa relevante de morbidade e mortalidade (HEATH; SCHUCHAT, 2007; SCHUCHAT, 1998). Recentemente, foram também relatadas infecções em pacientes adultos saudáveis (FUJITA et al., 2015; LI; CHEEMA; GOEL, 2016).

As síndromes mais comuns devido à doença invasiva por GBS em adultos são bacteremia sem foco e infecções de pele/tecidos moles (CHAIWARITH et al., 2011; PHARES et al., 2008; TAZI et al., 2011), sendo a primeira frequentemente caracterizada por apresentar estado mental alterado, calafrios e febre (EDWARDS; BAKER, 2015).

A bacteremia também pode ocorrer secundária a uma fonte focal de infecção, como a bacteremia polimicrobiana, mais comumente com *Staphylococcus aureus*, que pode ser observada em 26 a 45% dos casos (ESKANDARIAN et al., 2013; JACKSON et al., 1995). Esta pode levar, também, à disseminação para as válvulas cardíacas e progredir para o endocárdio. A colonizações do endocárdio resulta na endocardite bacteriana, que pode por consequência, aumentar risco de embolização (AMICO; CALVO; CORRAO, 2018; LERNER et al., 1977).

As infecções de pele e tecidos moles atribuídas à GBS podem manifestar-se como celulite, abscessos, infecção do pé, ou úlceras de decúbito (SENDI; JOHANSSON; NORRBY-TEGLUND, 2008a). A diabetes mellitus é uma condição subjacente comum em doentes com infecções de GBS na pele e tecidos moles (FARLEY et al., 1993). A fascite necrosante e a piomiosite atribuída à GBS é ocasionalmente descrita (CAMUSET et al., 2015; JACKSON et al., 1995; SENDI; JOHANSSON; NORRBY-TEGLUND, 2008b).

A osteomielite aguda e crônica atribuída ao GBS tem sido relatada em recém-nascidos, crianças e adultos. A infecção pode surgir da inoculação direta de

infecção da pele/tecidos moles sobrejacentes, ruptura da pele, como uma úlcera de decúbito, ou através de colonização hematogênica (GARCÍA-LECHUZ et al., 1999).

A artrite séptica devido à GBS é geralmente monoarticular, podendo haver infecção em qualquer articulação, embora possa infectar múltiplas articulações. No entanto, as articulações normalmente afetadas incluem o joelho, tornozelo e ombro (LOUTHRENOO et al., 2014; NOLLA et al., 2003).

Outro fato importante é que a artrite por GBS pode se desenvolver nas articulações protéticas, sendo que a maioria das infecções ocorre pelo menos 3 (três) meses após a instalação da prótese. Em alguns casos, dependendo da evolução do processo infeccioso das articulações protéticas por GBS pode ser, necessária, a remoção das próteses e terapia antimicrobiana local para um tratamento bem-sucedido (CORVEC et al., 2011; SENDI et al., 2011; ZELLER et al., 2009).

O GBS, concomitantemente com outros microrganismos, foi relacionado também com quadros de pneumonia. Os resultados de exames de imagem podem incluir infiltrados lobares unilaterais ou bilaterais (VERGHESE et al., 1982). Demência, doenças neurológicas e fístulas traqueo-esofágicas estão associadas à evolução do quadro clínico de pneumonia por GBS (FARLEY, 1995a). A colonização das vias aéreas por GBS é pouco frequente em doentes com fibrose cística, e, quando ocorre, não parece estar associada com a evolução do quadro clínico do paciente não interferindo com o prognóstico desta doença (SKOLNIK et al., 2017).

A meningite é uma manifestação mais grave da infecção por GBS e se desenvolve concomitante a forma sistêmica ou na fase de bacteremia. É pouco comum em adultos, mas é uma manifestação comum em recém-nascidos (MADRID et al., 2017). Os neonatos convalescentes à fase aguda da infecção por GBS, podem, desenvolver sequelas cognitivas ou neurológicas significativas; 32 a 44% dos neonatos sobreviventes à meningite por GBS têm uma deficiência de desenvolvimento neurológico, e, 19% evoluem para quadros neurológicos graves (KOHLI-LYNCH et al., 2017; LIBSTER et al., 2012).

Outra manifestação da doença por GBS inclui infecções do sistema gênito-urinário. As infecções do trato urinário podem estar associadas a uma variedade de sorotipos do GBS (ULETT et al., 2009). Nos homens, a GBS pode estar associada à prostatite (FARLEY, 1995b; PÉREZ-MORENO et al., 2017). A infecção e presença de bacteriúria causada por GBS nas mulheres durante a

gravidez é um fator de risco para a colonização maternal tardia e para a infecção neonatal precoce (PÉREZ-MORENO et al., 2017; VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010)

3.1.2. Infecção por GBS em idosos

Nos Estados Unidos, Canadá e Reino Unido, foram descritas taxas mais elevadas de incidência de doenças invasivas de GBS entre pessoas com 65 anos ou mais em comparação com a população adulta não-grávida em geral, e o mesmo padrão epidêmico é observado em múltiplos países europeus (FARLEY et al., 1993; KOTHARI et al., 2009; LAMAGNI et al., 2013; PREVENTION, 2011; TRIVALLE et al., 1998; TYRRELL et al., 2000).

As pessoas idosas e imunocomprometidas com doenças subjacentes, tais como diabetes mellitus e câncer, correm maior risco de doenças invasivas de GBS (FARLEY; STRASBAUGH, 2001; KOTHARI et al., 2009; SKOFF et al., 2009). Outros fatores de risco na população idosa incluem, estar acamado por internações hospitalares por longo período ou outras debilidades (KOTHARI et al., 2009; LAMAGNI et al., 2013; TRIVALLE et al., 1998; TYRRELL et al., 2000).

Outro fato, considerável, são as infecções do trato urinário em idosos que tem manifestação acentuada, quando comparada a mulheres adultas grávidas ou não (HIGH; EDWARDS; BAKER, 2005).

3.1.3. Infecções por GBS e gestantes

O GBS é um microrganismo comensal sendo presente na flora microbiana normal do trato gastrointestinal (GI) de aproximadamente 60-80% das mulheres (ALSHENGETI et al., 2020; VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010). Desta forma, a principal via de infecção por GBS em neonatal é a transmissão vertical das mães colonizadas, através da passagem e contaminação do neonato pela vagina durante o parto normal (SCHRAG; VERANI, 2013; SHANE; STOLL, 2014; VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010). A nível mundial, a incidência da infecção por GBS em gestantes é estimada em 0,38 casos para cada 1.000 gestantes, com uma taxa de 0,2% de casos fatais (HALL et al., 2017).

Outro fato importante, é que, gestantes colonizadas por GBS durante a gravidez têm um risco relativamente maior de sofrerem parto prematuro em

comparação com as mulheres não colonização por GBS (BIANCHI-JASSIR et al., 2017). Demais fatores de risco que incluem a idade e a raça, bem como o parto prematuro (menos de 37 semanas), febre materna durante o parto (superior a 36°C), e ruptura prolongada das membranas (superior a 18 horas) são também características de risco para o desenvolvimento da infecção por GBS (VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010).

Em ressonância, a colonização por GBS tem uma incidência de 10-30% na gravidez. Sem medidas preventivas, a infecção por GBS ocorre em 1% a 2% dos recém-nascidos de mães com colonização por GBS (VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010). A maioria dos neonatos expostos ao GBS durante o parto tornam-se colonizados e não desenvolvem sinais ou sintomas da infecção. O feto é também susceptível à infecção ascendente no líquido amniótico, com ou sem rotura de membranas (VERANI; MCGEE; SCHRAG, 2010)

Além disso, a infecção materna por GBS é também responsável por causar endometrite, parto cesáreo, infecções de feridas pós-operatórias, pielonefrite, e outras infecções ascendentes que resultam em sepse e pode provocar partos prematuros (CAPE et al., 2013; ROMERO et al., 1989; ROUSE et al., 2004; TITA; ANDREWS, 2010). A mastite materna e o abscesso mamário também podem ser causados pelo estreptococo do grupo B materno (ARIAS-CAMISON, 2003; LE DOARE; KAMPMANN, 2014).

3.1.4. Infecções por GBS e neonatos

A infecção neonatal por GBS, tem duas apresentações clínicas, que estão diretamente relacionadas ao período em que ocorre a infecção do paciente. A primeira forma é a precoce, que ocorre nos primeiros sete dias de vida, com a transmissão durante o parto ou nascimento, pela passagem do recém-nascido pelo trato genital colonizado ou por via ascendente, sendo essa a forma mais frequente e que geralmente evolui para o quadro clínico de sepse, pneumonia, bacteremia ou meningite bacteriana (COSTA; RICHTMAN; VACILOTO, 2001; MCKENNA; IAMS, 1998).

De acordo com o CDC, nos Estados Unidos, as estimativas da incidência da doença de início precoce variavam de 0,7 casos/1.000 nascidos vivos em 1997 a 0,2

casos/1.000 nascidos vivos em 2020 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020; SCHRAG et al., 2016; STOLL et al., 2011).

A nível mundial, essas estimativas por 1.000 nascidos vivos variam de País para País, com incidências de 0,09 no Japão, 0,58 no Panamá, 0,76 em Hong Kong, 0 a 1,5 na África do Sul, e 2,35 na República Dominicana, com uma estimativa conjunta de 0,49 casos por 1.000 nascidos vivos (MADRID et al., 2017; MATSUBARA et al., 2017; QUAN et al., 2016; RIVERA et al., 2015).

A forma tardia afeta o recém-nascido de sete dias até 12 semanas de idade. Sua transmissão pode ser horizontal ou nosocomial e raramente vertical. As manifestações clínicas mais comuns são a meningite, bacteremia sem foco aparente, a artrite séptica e raramente a onfalite e osteomielite (COSTA; RICHTMAN; VACILOTO, 2001; MCKENNA; IAMS, 1998).

A nível mundial, a incidência conjunta dessa aparição é de 0,26 casos por 1.000 nascidos vivos (MADRID et al., 2017). Nos Estados Unidos, a incidência estimada de é de 0,28 casos por 1.000 nados-vivos (BERARDI et al., 2013; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020).

É necessário que o Brasil elabore uma política pública de saúde que incentive a detecção precoce do GBS de maneira mais específica, bem como sua tabulação nos canais de informação de saúde, pois, em virtude de sua dimensão continental existem características diferentes e singulares nas diversas regiões do Brasil.

3.2. *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* E ANIMAIS

3.2.1. Infecções por GBS e animais aquáticos

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das mais importantes espécies de peixe comercial a nível mundial, sendo o terceiro mais produzido a nível mundial com mais de quatro milhões de toneladas em 2020, gerando uma receita anual milionária (EL-SAYED, 2006; The State of World Fisheries and Aquaculture 2022, 2022).

Em contraste, as perdas econômicas devidas ao GBS na piscicultura mundial foram de 40 milhões de dólares anuais (LI et al., 2013), representando uma grande ameaça para a indústria da piscicultura, particularmente para a indústria da tilápia (MIAN et al., 2009).

A meningite é uma manifestação clínica característica na tilápia do Nilo infectada com GBS. Os peixes infectados apresentam sinais clínicos neurológicos graves, tais como natação errática, exoftalmia, opacidade da córnea, e o exame histopatológico mostra uma meningite supurativa (YI et al., 2019).

A principal via de transmissão é horizontal pelo contato com peixes e/ou alimentos contaminados, como também pelo contato indireto mediado pela água dos criadouros (LIM; WEBSTER, 2006). A bactéria é excretada pelas fezes dos peixes infectados e pode permanecer viva na coluna de água, aumentando a possibilidade de transmissão fecal-oral (NGUYEN; KANAI; YOSHIKOSHI, 2002). Outra via é a oral, por meio do canibalismo dos animais mortos ou moribundos, que leva a propagação da doença (WONGSATHEIN, 2012).

Além de torna-las impróprias para consumo, a capacidade do GBS de infectar múltiplas espécies e de se adaptar aos diferentes mecanismos de defesa entre as diferentes espécies aquáticas ou terrestres salienta a importância de validar modelos experimentais representativos utilizados para estudar este agente patogênico (ETO et al., 2020).

Nota-se também que o GBS é um patógeno emergente em pisciculturas no Brasil e que já apresenta resistência a algumas drogas. Além disso, deve-se ressaltar que a ocorrência de tal infecção numa piscicultura de produção de alevinos pode representar a disseminação do agente para várias regiões do país, por serem vendidos para engorda e estarem assintomáticos (FIGUEIREDO et al., 2006).

3.2.2. Infecções por GBS e bovinos

O GBS é um dos principais patógenos causadores da mastite bovina que se desenvolve na glândula mamárias de vacas leiteiras, podendo, ser contagioso e transmitida principalmente na hora da ordenha, se manifesta na maioria das vezes na forma subclínica, dificultando a detecção e quando não observada e tratada, pode infectar o rebanho por anos (TEIXEIRA; CASTRO; PEREIRA, 2017).

A mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária que pode ser causadas por mais de 130 agentes etiológicos dentre os principais se destaca o *Staphylococcus aureus*, *Streptococci*, e as *Enterobacteriaceae* (QUINN et al., 2013).

Essa patologia é frequentemente classificada como subclínica ou clínica, dependendo de sua gravidade, contágio e ambiente a qual o animal reside, e por

fim, com base nos agentes causadores (ANDREWS et al., 2008; QUINN et al., 2013). As mastites causadas por estafilococos e estreptococos são as mais comuns, e, do ponto de vista econômico, são as mais preocupantes (ANDERSEN et al., 2003). Ademais, ele pode sobreviver por curtos períodos de tempo nas mãos, peças da máquina de ordenha e no epitélio do ubre, levando à sua propagação durante a ordenha (LAKEW; FAYERA; ALI, 2019).

Por fim, a mastite tem contribuído para a redução na produção de leite e que resulta em perdas econômicas significativas para a indústria leiteira (ERSKINE, 1992), através da redução do rendimento e qualidade do leite, custo de medicamentos e tratamento veterinário, leite descartado e abate forçado dos animais (QUINN et al., 2013).

3.2.3. Infecções por GBS e outros animais exóticos

O GBS desempenha um papel importante nas infecções bacterianas não apenas em bovinos, peixes e humanos. Dentro outros hospedeiros os elefantes em zoológicos de diferentes continentes apresentaram infecções por GBS com manifestações clínicas graves (EISENBERG et al., 2017), bem como um relato de caso do primeiro isolamento de GBS em lhamas, analisado a partir de um animal provindo de uma fazenda de visitação que conta aproximadamente 200 camelídeos sul-americanos (lhamas, alpacas), juntamente com vários cavalos, galinhas, coelhos, gatos e cães. Esta fazenda oferece serviços como *trekking* e atividades de terapia com animais de estimação, podendo justificar o meio de transmissão (TAVELLA et al., 2018).

Foi descrito também um caso de fascite necrosante por GBS em réptil, no caso um crocodilo jovem de água salgada. Embora esse problema continue sendo uma condição clínica rara em humanos e animais, os criadores de répteis devem estar cientes dessa nova e grave causa de morbidade e mortalidade, que potencialmente tem predileção por juvenis e ocorrência em circunstâncias de criação intensiva (BISHOP et al., 2007).

Também se observou que o GBS foi responsável por causar infecção com sinais clínicos e mortalidade em rãs-touro, semelhantes aqueles manifestados por peixes (SILVA, 2020), sendo que com a valorização da carne de rã no mercado nacional na década de 80, muitos empreendedores rurais foram atraídos a

investirem na criação desses animais (FEIX; ABDALLAH; FIGUEIREDO, 2006; RODRIGUES et al., 2010), sendo então esta infecção caracterizada como mais um perigo econômico.

3.3 PROTEÍNAS ABCs

Os transportadores ABC (*ATP-binding cassette*) são uma categoria importante de estruturas proteicas bacterianas associadas à membrana da célula, envolvidos na importação ou exportação de uma vasta gama de substratos, incluindo micronutrientes, açúcares, aminoácidos e peptídeos, antibióticos, e peptídeos antimicrobianos (DURMORT; BROWN, 2015). A superfamília dos transportadores ABC compreende proteínas de membrana que efluem vários substratos através das membranas (DEAN; MOITRA; ALLIKMETS, 2022).

Esse sistema pode ser dividido em três categorias funcionais principais: os importadores, os exportadores e a terceira categoria aparentemente não está envolvida no transporte, estando alguns membros envolvidos na tradução do RNAm e na reparação do DNA (DAVIDSON et al., 2008).

Os importadores medeiam a absorção de nutrientes em procariontes, sendo a natureza dos substratos transportados muito ampla, incluindo mono e oligossacarídeos, íons orgânicos e inorgânicos, aminoácidos, peptídeos, sideróforos, metais, cátions poliamínicos, opinos e vitaminas. Os exportadores estão envolvidos na secreção de várias moléculas, tais como peptídeos, lípidos, drogas hidrofóbicas, polissacáridos, e proteínas, incluindo toxinas como a hemolisina (DAVIDSON et al., 2008).

Os transportadores de ABC têm um grande impacto na fisiologia bacteriana, e a sua disfunção pode ter fortes efeitos deletérios. Enquanto alguns transportadores de ABC são claramente dedicados à exportação de fatores de virulência, em condições apropriadas muitos outros podem tornar-se importantes para a viabilidade, virulência e patogenicidade.

Um exemplo é dado pelos sistemas de absorção de ferro, reconhecidos como importantes agentes de virulência (HENDERSON; PAYNE, 1994). Como o ferro existe principalmente na forma insolúvel Fe^{3+} em condições aeróbicas, ele é biologicamente disponível no corpo e é quelatado por proteínas de ligação ao ferro de alta afinidade, como as transferrinas, lactoferrinas e ferritinas ou como

componente de eritrócitos, como heme, hemoglobina ou hemopexina (KÖSTER; BRAUN, 1990).

Os agentes patogênicos são capazes de retirar este mineral destas fontes, segregando moléculas complexantes de alta afinidade chamadas sideróforos e reabsorvendo-as como complexos ferro-sideróforos (KÖSTER; BRAUN, 1990).

O conhecimento sobre as proteínas transportadoras ABC é de grande valor para a agricultura sustentável, o rendimento económico, e a geração de produtos de alta qualidade, especialmente em condições de crescimento desfavoráveis (BANASIAK; JASIŃSKI, 2022).

Outro exemplo de envolvimento na virulência é a operação *chvE-gguAB* em *Agrobacterium tumefaciens*, que codifica um importador de glicose e galactose (CANGELOSI; ANKENBAUER; NESTER, 1990; KEMNER; LIANG; NESTER, 1997). A ligação do açúcar ao ChvE desencadeia uma resposta de sinalização que resulta na expressão do gene da virulência. Finalmente, um aumento potencialmente letal da força osmótica é contrabalançado pela ativação de transportadores ABC osmotossensivos que medeiam a absorção de solutos compatíveis (POOLMAN; SPITZER; WOOD, 2004).

Para além da sua importância no transporte, os sistemas ABC estão envolvidos na regulação de vários processos fisiológicos. Neste contexto, é necessário distinguir claramente as funções reguladoras diretas dos efeitos indiretos mediados através do substrato transportado.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. BACTÉRIA

A cepa de *S. agalactiae* (número de acesso GenBank: MH359095.1) foi cultivada em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) (Difco, Detroit, MI, EUA) a 28 °C com agitação por 48 h. O ágar foi removido por centrifugação a 10.000 g por 10 min a 4 °C, e o pellet celular foi lavado com solução salina tamponada com fosfato (PBS) 0,15 M pH 7,2, quatro vezes e separação da membrana e proteínas citoplasmáticas, realizada de acordo com Fernandes e outros (2019).

3.2. PROTEÔMICA

As amostras foram analisadas em espectrometria de massa de alta resolução. Para isso, 100 µg de proteínas foram precipitadas em acetona por 1 h a – 20°C e então a amostra foi centrifugada a 14.000 g por 5 min e o pellet ressuspenso em 100 µL de solução Ambic 50 mM (bicarbonato de sódio 50 mM). amônio 0,2 g/50 mL H₂O miliQ) e a reação incubada por 15 minutos a 99 °C. Em seguida, 3 µL da solução de redução (30 mg de DTT em 1 mL de 50 mM Ambic) foram adicionados e a reação incubada por 10 min a 37 °C. Depois disso, 20 µL da solução de alquilação (55 mM de iodoacetamida (102 mg/10 mL de solução 50 mM AmBic) foi adicionado e incubado por 10 min em temperatura ambiente e 125 µL da solução de digestão (tripsina diluída 1:20 em Solução Ambic 50mM) foi adicionada e a reação incubada por 16 horas a 37°C. Na etapa final, um volume de 200 µL de amostras foi adicionado a colunas de spin C18 (89870) e o procedimento foi conforme recomendado pelo fabricante. Finalmente , as amostras contendo os peptídeos foram injetadas no espectrômetro de massas (Q-Exactive, Thermo) e, em seguida, os peptídeos foram identificados usando o Software MaxQuant (<https://www.maxquant.org/maxquant/>).

3.3. BIOINFORMÁTICA

Inicialmente, os arquivos FASTA relacionados às proteínas ABCs de *S. agalactiae* foram adquiridos da plataforma de pesquisa UNIPROT (<http://www.uniprot.org>). Em seguida, as proteínas identificadas na espectrometria de massas foram inseridas no software Blast2GO, versão Free Trial (<https://www.blast2go.com>) e as proteínas transportadoras ABCs foram classificadas segundo grupos funcionais, associados a processos biológicos, função molecular e celular componentes. Para construir a rede de interação proteína-proteína (PPI) e separar funcionalmente as proteínas usando o banco de dados STRING (<https://string-db.org/cgi/>).

3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

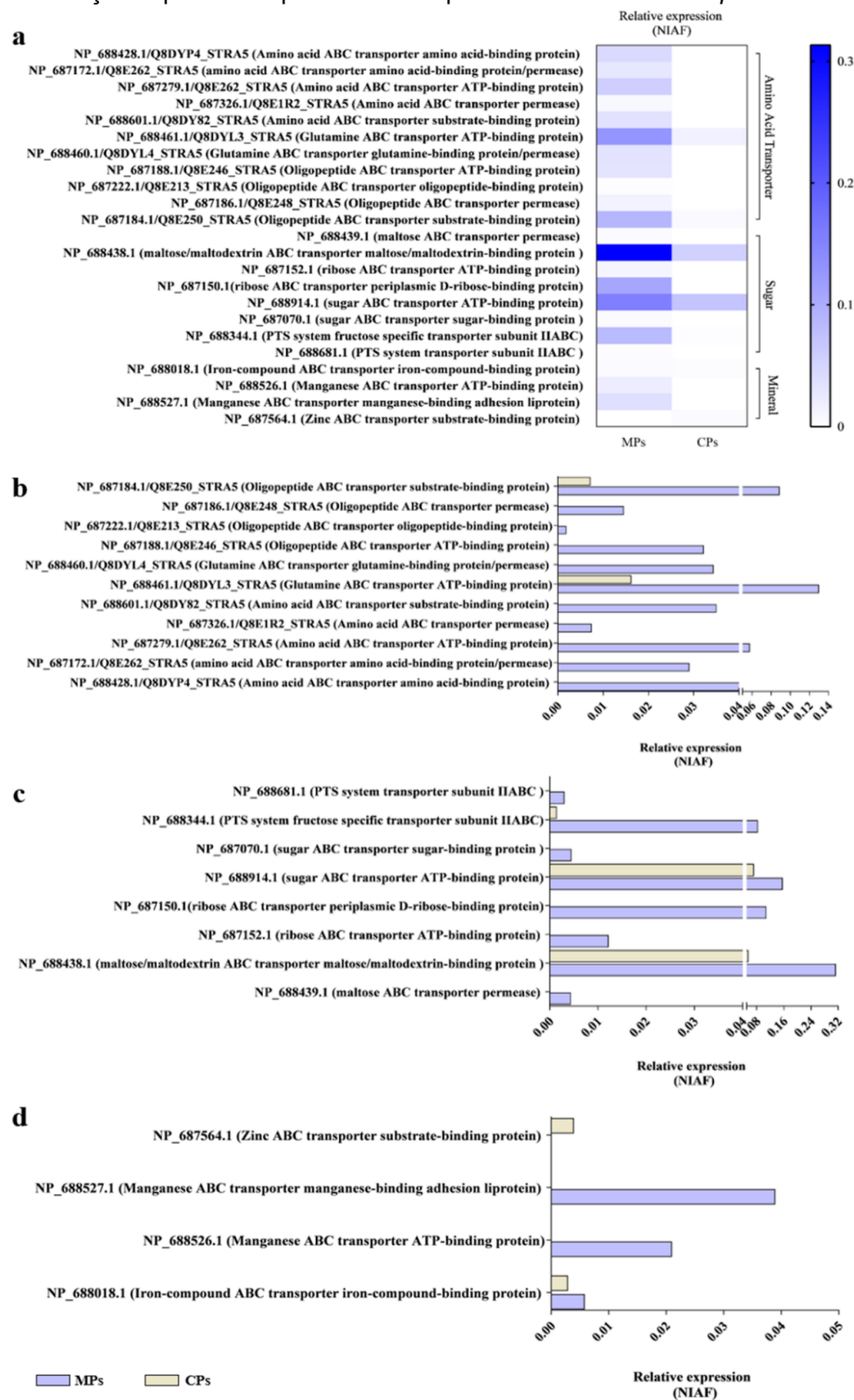
Os resultados serão submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), ao nível de significância de 5% (Snedecor e Cochran 1974).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Às proteínas transportadoras ABCs são uma categoria importante de estruturas proteicas bacterianas associadas à membrana das células e são envolvidas na importação ou exportação de uma vasta gama de substratos, incluindo micronutrientes, açúcares, aminoácidos, antibióticos, e péptidos antimicrobianos. (Durmort e Brown, 2015). Neste contexto, a investigação da translocação espacial das proteínas ABCs transportadoras responsáveis pelo metabolismo microbiano do *Streptococcus do Grupo B*, em condições ideais de crescimento tem um papel importante, e representa a chave para a descoberta de novos fármacos com potencial antimicrobiano.

Dito isto, a identificação das proteínas ABCs associadas funcionalmente ao transporte de aminoácidos, açúcares e minerais, foi mais abundante, no extrato protéico da membrana plasmática (**Figura 1a**). Entretanto, quando a abundância das proteínas em cada extrato bacteriano são analisadas separadamente, observamos que o metabolismo bacteriano em condições ideais, parece ter direcionado sua síntese proteica para produzir proteínas ABCs com função de transporte de açúcar (**Figura 1a-b**), evidenciado pela identificação destas proteínas, em níveis elevados no citoplasma e no extrato de membrana, principalmente a maltose/maltodextrin ABC transporter (NP_688438.1), seguido da sugar ABC transporter ATP-binding protein (NP_688914.1) e dentre as demais proteínas como, a ribose ABC transporter periplasmic D-ribose-binding protein (NP_687150.1) e PTS system fructose specific transporter subunit IIABC (NP_688344.1) cuja a abundância foi significativa apenas no extrato de membrana.

Figura 1. Distribuição espacial das proteínas transportadoras ABCs do *Streptococcus do Grupo B*.



Legenda: (a) Mapa de Calor mostra a abundância de todas as proteínas ABCs identificadas em cada extrato protéico: citoplasma (CPs) e membrana (MPs). (b) Mostra separadamente as ABCs funcionalmente relacionadas ao transporte de aminoácidos predicado na versão teste pelo software Blast2GO <https://www.blast2go.com> em (c) transporte de açúcares e (d) minerais. Relativa expressão (NIAF = Normalized Ion Abundance Factor/ Fator de Abundância de Íons Normalizado).

Fonte: O Autor (2022)

Estudos *in vitro* mostraram a importância do gene MalFGK2 que codifica a proteína transportadora de maltose na manutenção do estado fisiológico bacteriano

de *Escherichia coli* (Licht et al., 2019). Outro exemplo do envolvimento do transporte de açúcar nos mecanismos de virulência é o efeito do gene *chvE-gguAB* mapeado na *Agrobacterium tumefaciens*, que codifica a proteína importadora de glicose e galactose (Cangelosi, Ankenbauer e Nester, 1990; Kemner, Liang e Nester, 1997) e a ligação do açúcar ao ChvE desencadeia uma resposta de sinalização que resulta na expressão do gene da virulência (Poolman, Spitzer and Wood, 2004).

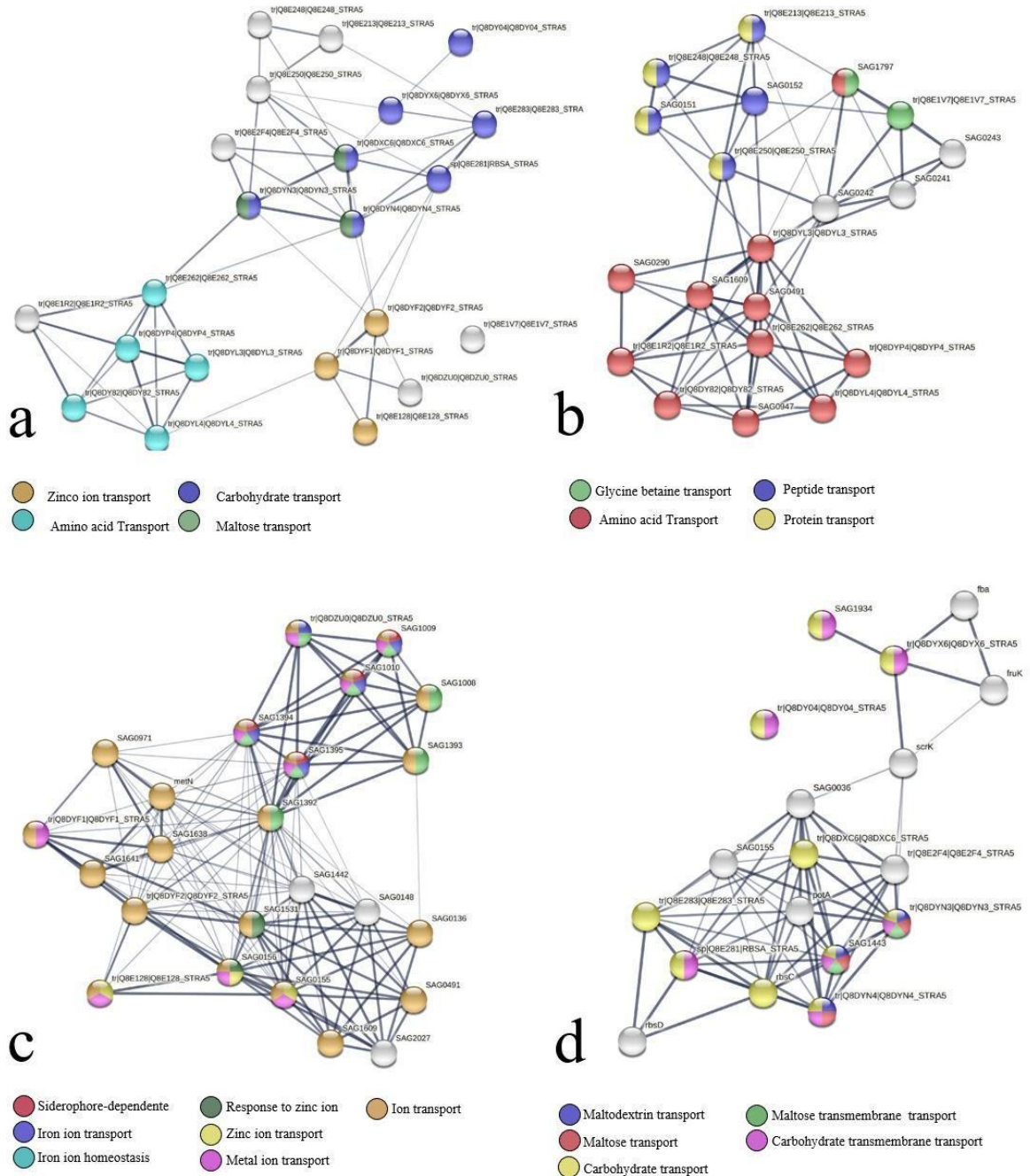
Na sequência dos eventos, o metabolismo bacteriano parece ter direcionado seu maquinário celular, primeiro para produzir energia ou neste contexto o transporte de açúcares e em seguida, direcionou esta energia para a produção de proteínas com função de transporte de aminoácidos, observado pela abundância das proteínas glutamine ABC transporter ATP-binding protein GlnQ (NP_688461.1), oligopeptide ABC transporter substrate-binding protein (NP_687184.1) e amino acid ABC transporter ATP-binding protein (NP_687279.1) nos dois extratos proteicos (MPs e CPs). Sendo a primeira mais abundante nos dois extratos bacterianos (**Figura 1a-c**). Posto isto, o transporte de aminoácido é essencial para a produção de novas proteínas, principalmente aquelas envolvidas no próprio transporte e na absorção de nutrientes, como as envolvidas nos fatores de virulência (Eitinger et al., 2011). Dentre outras funções, as transportadoras ABCs estão envolvidas na secreção de várias moléculas, tais como péptidos, lípidos, drogas hidrofóbicas, polisacáridos, e proteínas, incluindo exotoxinas como a hemolisina. (Davidson et al. 2008).

Finalmente, o transporte de minerais foi menos intenso, destacando apenas as proteínas manganese ABC transporter manganese-binding adhesion lipoprotein NP_688527.1, manganese ABC transporter ATP-binding protein (NP_688526.1) e iron-compound ABC transporter iron-compound-binding protein (NP_688018.1). Este resultado pode ser explicado pela não necessidade de absorção de Ferro ou outros minerais (Handerson e Payne, 1994). Como o ferro existe principalmente na forma insolúvel Fe^{3+} em condições aeróbicas, ele é biologicamente disponível no sistema orgânico, e é encontrado quelatado por proteínas de ligação ao ferro de alta afinidade, como as transferrinas, lactoferrinas e ferritinas ou como componente de eritrócitos, como o grupamento heme, da hemoglobina ou hemopexina (Köster e Braun, 1990). Neste contexto, podemos presumir que em condições ideais de

crescimento, sem estar dependente de nutrientes providos pelo hospedeiro, o maquinário metabólico do *S. agalactiae* direcionou suas vias metabólicas para o transporte de açúcar e aminoácidos visando a produção de proteínas celulares. Ademais, o sistema de transporte bacteriano pode ser dividido em três categorias funcionais principais: importação de nutrientes e exportação de metabólitos nocivos tais como moléculas de antibióticos por exemplo, além da manutenção do controle osmótico e uma terceira categoria aparentemente envolvida na tradução do RNAm e na reparação do DNA (Davidson et al. 2008). Provavelmente justificável pela intensa mitose bacteriana provida pelas condições ideais de crescimento microbiano.

Quando analisamos a network das ABCs responsáveis pelo transporte de açúcares, aminoácidos e minerais (Figura 2a) observamos uma interação física entre este conjunto de proteínas, traduzindo a importância da interação sinérgica dessas proteínas no transporte de nutrientes e na excreção de metabólitos. A análise individual da *network* (**Figuras 2b-c-d**) mostrou com maior clareza a dependência e necessidade do sinergismo dessas vias para o funcionamento fisiológico do metabolismo microbiano. Além disso, mostramos que a interrupção destas vias pode resultar em danos irreversíveis para o microrganismo.

Figura 2. Interação proteína-proteína das ABCs transportadoras do *Streptococcus do Grupo B*.



Legenda: (a) Interação global entre todas as proteínas ABCs transportadoras identificadas e às interações analisadas separadamente Aminoácidos (b), Açúcar (c) e Minerais (c). Network funcional usando o banco de dados STRING a interação foi classificada pela função biológica e selecionando apenas interações físicas entre as proteínas.

Fonte: O Autor (2022)

As proteínas transportadoras ABCs têm um grande impacto na fisiologia bacteriana, e a sua disfunção pode acarretar efeitos deletérios irreversíveis na célula bacteriana. Em acréscimo, o fato de que, algumas destas proteínas são claramente dedicadas à exportação dos fatores de virulência, e estes fatores são imprescindíveis para a viabilidade, virulência, e patogenicidade do microrganismo.

Tabela 1. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de aminoácidos do *Streptococcus do Grupo B*.

Accession	Description	Coverage	Unique Peptides	Score MP	Coverage MP	PSM MP	Score CP	Coverage CP	PSM CP	AAs	MW [kDa]	NSAF MP*	NSAF CP*
NP_688428.1	amino acid ABC transporter amino acid-binding protein	12,31	2	1773,2 ²	12,31	6		0,00		268	28,9	0,0448	0
NP_687172.1	amino acid ABC transporter amino acid-binding protein/permease	12,98	4	2126,8 ⁴	12,98	8		0,00		516	57,2	0,0291	0
NP_687279.1	amino acid ABC transporter ATP-binding protein	27,30	8	3533,8 ²	27,30	14		0,00		381	43,0	0,0577	0
NP_687326.1	amino acid ABC transporter permease	4,12	1	198,03	4,12	1		0,00		267	29,4	0,0075	0
NP_688601.1	amino acid ABC transporter substrate-binding protein	22,81	4	1613,0 ⁷	22,81	6		0,00		285	31,5	0,0351	0
NP_688461.1	glutamine ABC transporter ATP-binding protein, GlnQ	33,74	6	4720,2 ²	33,74	19	503,46	12,20	3	246	27,1	0,1301	0,01626016
NP_688460.1	glutamine ABC transporter	19,26	10	3638,8 ¹	19,26	18		0,00		727	79,0	0,0344	0
NP_687188.1	oligopeptide ABC transporter ATP-binding protein	11,29	2	1313,9 ⁹	11,29	5		0,00		310	34,8	0,0323	0
NP_687222.1	oligopeptide ABC transporter	1,85	1	186,21	1,85	1		0,00		542	61,0	0,0018	0
NP_687186.1	oligopeptide-binding protein	6,71	2	673,50	6,71	3		0,00		343	37,3	0,0146	0
NP_687184.1	oligopeptide ABC transporter substrate-binding protein	32,12	12	8604,3 ⁷	32,12	28	617,36	2,54	2	551	60,5	0,0889	0,007259528

Legenda: Proteínas de Membrana (MPs) e citoplasmática (CPs); AAs = aminoácidos; NIAF = Normalized Ion Abundance Factor/ Fator de Abundância de Ions Normalizado; (*) representa a média de três réplicas.

Fonte: O Autor (2022)

Tabela 2. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de açúcares do *Streptococcus* do Grupo B.

Accession	Description	Coverage	Unique Peptides	Score MP	Coverage MP	PSM MP	Score CP	Coverage CP	PSM CP	AAs	MW [kDa]	NSAF MP*	NSAF CP*
NP_688439.1	maltose ABC transporter permease	3,29	1	194,21	3,29	1		0,00		456	50,7	0,0044	0
NP_688438.1	maltose/maltodextrin ABC transporter	60,00	20	23504,01	60,00	74	3616,61	33,25	12	415	45,2	0,3133	0,0554
NP_687152.1	ribose ABC transporter ATP-binding protein	8,33	3	803,08	8,33	4		0,00		492	54,9	0,0122	0
NP_687150.1	ribose ABC transporter periplasmic D-ribose-binding protein	42,55	9	5356,98	42,55	19		0,00		322	34,0	0,1087	0
NP_688914.1	sugar ABC transporter ATP-binding protein	41,91	13	8978,79	41,91	36	4020,42	24,14	15	377	42,1	0,1565	0,0716
NP_687070.1	sugar ABC transporter sugar-binding protein	4,57	1	402,86	4,57	1		0,00		438	48,8	0,0046	0
NP_688344.1	PTS system fructose specific transporter subunit IIABC	23,55	12	9925,33	23,55	36	123,47	2,14	1	654	67,6	0,0841	0,0015
NP_688681.1	PTS system transporter subunit IIABC	2,03	1	204,35	2,03	1		0,00		639	67,5	0,0031	0

Legenda: Proteínas de Membrana (MPs) e citoplasmática (CPs); AAs = aminoácidos; NIAF = Normalized Ion Abundance Factor/ Fator de Abundância de Ions Normalizado; (*) representa a média de três réplicas.

Fonte: O Autor (2022)

Tabela 3. Identificação das proteínas ABCs associadas ao transporte de minerais do *Streptococcus* do Grupo B.

Accession	Description	Coverage	Unique Peptides	Score MP	Coverage MP	PSM MP	Score CP	Coverage CP	PSM CP	AAs	MW [kDa]	NSAF MP*	NSAF CP*
NP_688018.1	iron-compound ABC transporter iron-compound-binding protein	6,14	1	261,44	3,22	2	128,88	2,92	1	342	37,7	0,0058	0,0029
NP_688526.1	manganese ABC transporter ATP-binding protein	14,29	2	613,40	14,29	3		0,00		238	26,1	0,021	0
NP_688527.1	manganese ABC transporter manganese-binding adhesion liprotein	12,34	2	1748,55	12,34	8		0,00		308	34,3	0,039	0
NP_687564.1	zinc ABC transporter substrate-binding protein	2,57	1		0,00		189,11	2,57	1	506	57,6	0	0,004

Legenda: Proteínas de Membrana (MPs) e citoplasmática (CPs); AAs = aminoácidos; NIAF = Normalized Ion Abundance Factor/ Fator de Abundância de Ions Normalizado; (*) representa a média de três réplicas.

Fonte: O Autor (2022).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista, que o *Streptococcus agalactiae* é um patógeno de grande periculosidade para saúde humana e animal. Principalmente, para a medicina neonatal devida ao alto índice de mortalidade e morbidade, gerada pela infecção do sistema nervoso central dos neonatos, além das consequências geradas pelas sequelas neurológicas graves em pacientes convalescentes.

Tendo em vista que a base terapêutica desta enfermidade é direcionada para o uso de antibióticos que por sinal tende a ter efeitos colaterais pronunciados no hospedeiro e a geração da resistência bacteriana. Podemos enfatizar, a importância da busca constante de métodos profiláticos e terapêuticos mais eficazes para o sucesso no tratamento desta enfermidade. Dentre estes fatos, o metabolismo microbiano é necessário para a produção dos fatores de virulência, assim, o estudo do metabolismo microbiano se torna imprescindível para a descoberta de novos fármacos e imunógenos.

Por fim, nosso estudo conclui que o *S. agalactiae* em condições ideais de crescimento, opera seu metabolismo de forma a direcionar estrategicamente a síntese de proteínas ABCs para o transporte de açúcares, fornecendo subsídio metabólico para a produção de novas proteínas responsáveis pela importação de aminoácidos. Tal fato, em conjunto com o mapeamento da abundância e a translocação espacial destas proteínas para a membrana plasmática, nos direciona à explorar estas proteínas como possíveis alvos moleculares para a terapêutica desta enfermidade.

BIBLIOGRAFIA

ALSHENGETI, A. et al. Knowledge, attitude and current practices of pregnant women towards group B streptococcus screening: cross-sectional study, Al-Madinah, Saudi Arabia. **BMJ open**, v. 10, n. 2, p. e032487, 2020.

AMICO, S.; CALVO, L.; CORRAO, S. An “aubergine” in the heart: huge native mitral valve endocarditis caused by *Streptococcus agalactiae*. **Internal and Emergency Medicine**, v. 13, n. 1, p. 137–138, 2018.

ANDERSEN, H. J. et al. Evaluation of the surveillance program of *Streptococcus agalactiae* in Danish dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 4, p. 1233–1239, 2003.

ANDREWS, A. H. et al. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2008.

ARIAS-CAMISON, J. M. Late onset group B streptococcal infection from maternal expressed breast milk in a very low birth weight infant. **Journal of perinatology**, v. 23, n. 8, p. 691–692, 2003.

BANASIAK, J.; JASIŃSKI, M. ATP-binding cassette transporters in nonmodel plants. **New Phytologist**, v. 233, n. 4, p. 1597–1612, 2022.

BERARDI, A. et al. Group B streptococcus late-onset disease: 2003–2010. **Pediatrics**, v. 131, n. 2, p. e361–e368, 2013.

BIANCHI-JASSIR, F. et al. Preterm birth associated with group B Streptococcus maternal colonization worldwide: systematic review and meta-analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. suppl_2, p. S133–S142, 2017.

BISHOP, E. J. et al. Necrotizing fasciitis in captive juvenile *Crocodylus porosus* caused by *Streptococcus agalactiae*: an outbreak and review of the animal and human literature. **Epidemiology & Infection**, v. 135, n. 8, p. 1248–1255, 2007.

CAMUSET, G. et al. Invasive group B streptococcal disease in non-pregnant adults, Réunion Island, 2011. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 35, p. 46–50, 2015.

CANGELOSI, G. A.; ANKENBAUER, R. G.; NESTER, E. W. Sugars induce the *Agrobacterium* virulence genes through a periplasmic binding protein and a transmembrane signal protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 17, p. 6708–6712, 1990.

CAPE, A. et al. Peripartum bacteremia in the era of group B streptococcus prophylaxis. **Obstetrics & Gynecology**, v. 121, n. 4, p. 812–818, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Group B Streptococcus, 2020**. [s.l: s.n.].

CHAIWARITH, R. et al. Streptococcus agalactiae in adults at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. **BMC infectious diseases**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2011.

CORVEC, S. et al. Clinical features of group B Streptococcus prosthetic joint infections and molecular characterization of isolates. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 1, p. 380–382, 2011.

COSTA, H. P. F.; RICHTMAN, R.; VACILOTO, E. L. Estreptococo do grupo B; emergente ou desconhecido. **Jornal da SOGESP**, v. 6, p. 24–26, 2001.

DAVIDSON, A. L. et al. Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 72, n. 2, p. 317–364, 2008.

DEAN, M.; MOITRA, K.; ALLIKMETS, R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. **Human Mutation**, v. 43, n. 9, p. 1162–1182, 2022.

DEUTSCHER, M. et al. Incidence and severity of invasive Streptococcus pneumoniae, Group A Streptococcus, and Group BS treptococcus infections among pregnant and postpartum women. **Clinical infectious diseases**, v. 53, n. 2, p. 114–123, 2011.

DURMORT, C.; BROWN, J. S. Streptococcus pneumoniae lipoproteins and ABC transporters. Em: **Streptococcus pneumoniae**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 181–206.

EDMOND, K. M. et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 379, n. 9815, p. 547–556, 2012.

EDWARDS, M. S.; BAKER, C. J. Streptococcus agalactiae (group B Streptococcus), p 2340–2348. **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Updated Edition, 8th ed Saunders, Philadelphia.[Google Scholar]**, 2015.

EISENBERG, T. et al. Streptococcus agalactiae in elephants—A comparative study with isolates from human and zoo animal and livestock origin. **Veterinary microbiology**, v. 204, p. 141–150, 2017.

EITINGER, T. et al. Canonical and ECF-type ATP-binding cassette importers in prokaryotes: diversity in modular organization and cellular functions. **FEMS microbiology reviews**, v. 35, n. 1, p. 3–67, 2011.

EL-SAYED, A.-F. M. **Tilapia culture**. [s.l.] CABI publishing, 2006.

ERSKINE, R. J. Mastitis control in dairy herds with high prevalence of subclinical mastitis. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1992.

ESKANDARIAN, N. et al. Group B streptococcal bacteremia in a major teaching hospital in Malaysia: a case series of eighteen patients. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 9, p. e777–e780, 2013.

ETO, S. F. et al. Meningitis caused by streptococcus agalactiae in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Infection and inflammatory response. **Animals**, v. 10, n. 11, 2020.

FARLEY, M. M. et al. A population-based assessment of invasive disease due to group B Streptococcus in nonpregnant adults. **New England Journal of Medicine**, v. 328, n. 25, p. 1807–1811, 1993.

FARLEY, M. M. Group B streptococcal infection in older patients. **Drugs & aging**, v. 6, n. 4, p. 293–300, 1995a.

FARLEY, M. M. Group B streptococcal infection in older patients. **Drugs & aging**, v. 6, n. 4, p. 293–300, 1995b.

FARLEY, M. M.; STRASBAUGH, L. J. Group B streptococcal disease in nonpregnant adults. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 556–561, 2001.

FEIX, R. D.; ABDALLAH, P. R.; FIGUEIREDO, M. R. C. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. 2006.

FIGUEIREDO, H. C. P. et al. Streptococcus agalactiae associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 678–680, 2006.

FRY, R. M. Fatal Infections by Haemolytic Streptococcus Group B. **Lancet**, p. 199–201, 1938.

FUJITA, H. et al. Severe infective endocarditis in a healthy adult due to Streptococcus agalactiae. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 38, p. 43–45, 2015.

GARCÍA-LECHUZ, J. M. et al. Group B streptococcal osteomyelitis in adults. **Medicine**, v. 78, n. 3, p. 191–199, 1999.

HALL, J. et al. Maternal disease with group B Streptococcus and serotype distribution worldwide: systematic review and meta-analyses. **Clinical infectious diseases**, v. 65, n. suppl_2, p. S112–S124, 2017.

HEATH, P. T. An update on vaccination against group B streptococcus. **Expert review of vaccines**, v. 10, n. 5, p. 685–694, 2011.

HEATH, P. T.; SCHUCHAT, A. Perinatal group B streptococcal disease. **Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 21, n. 3, p. 411–424, 2007.

HENDERSON, D. P.; PAYNE, S. M. *Vibrio cholerae* iron transport systems: roles of heme and siderophore iron transport in virulence and identification of a gene associated with multiple iron transport systems. **Infection and immunity**, v. 62, n. 11, p. 5120–5125, 1994.

HIGGINS, C. F. ABC transporters: from microorganisms to man. **Annual review of cell biology**, v. 8, n. 1, p. 67–113, 1992.

HIGH, K. P.; EDWARDS, M. S.; BAKER, C. J. Group B streptococcal infections in elderly adults. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 6, p. 839–847, 2005.

HOLLAND, I. B.; BLIGHT, M. A. ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans. **Journal of molecular biology**, v. 293, n. 2, p. 381–399, 1999.

JACKSON, L. A. et al. Risk factors for group B streptococcal disease in adults. **Annals of internal medicine**, v. 123, n. 6, p. 415–420, 1995.

KEMNER, J. M.; LIANG, X.; NESTER, E. W. The *Agrobacterium tumefaciens* virulence gene *chvE* is part of a putative ABC-type sugar transport operon. **Journal of bacteriology**, v. 179, n. 7, p. 2452–2458, 1997.

KOHLI-LYNCH, M. et al. Neurodevelopmental impairment in children after group B streptococcal disease worldwide: systematic review and meta-analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. suppl_2, p. S190–S199, 2017.

KÖSTER, W.; BRAUN, V. Iron (III) hydroxamate transport into *Escherichia coli*. Substrate binding to the periplasmic FhuD protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 35, p. 21407–21410, 1990.

KOTHARI, N. J. et al. Invasive group B streptococcal disease in the elderly, Minnesota, USA, 2003–2007. **Emerging infectious diseases**, v. 15, n. 8, p. 1279, 2009.

KROHN, M. A.; HILLIER, S. L.; BAKER, C. J. Maternal peripartum complications associated with vaginal group B streptococci colonization. **The Journal of infectious diseases**, v. 179, n. 6, p. 1410–1415, 1999.

LAKEW, B. T.; FAYERA, T.; ALI, Y. M. Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia. **Tropical animal health and production**, v. 51, n. 6, p. 1507–1513, 2019.

LAMAGNI, T. L. et al. Emerging trends in the epidemiology of invasive group B streptococcal disease in England and Wales, 1991–2010. **Clinical infectious diseases**, v. 57, n. 5, p. 682–688, 2013.

LANCEFIELD, R. C. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. **The Journal of experimental medicine**, v. 57, n. 4, p. 571–595, 1933.

LANCEFIELD, R. C.; HARE, R. The serological differentiation of pathogenic and non-pathogenic strains of hemolytic streptococci from parturient women. **The Journal of experimental medicine**, v. 61, n. 3, p. 335, 1935.

LE DOARE, K.; KAMPMANN, B. Breast milk and Group B streptococcal infection: vector of transmission or vehicle for protection? **Vaccine**, v. 32, n. 26, p. 3128–3132, 2014.

LERNER, P. I. et al. Group B streptococcus (*S. agalactiae*) bacteremia in adults: analysis of 32 cases and review of the literature. **Medicine**, v. 56, n. 6, p. 457–474, 1977.

LI, L. et al. Rare serotype occurrence and PFGE genotypic diversity of *Streptococcus agalactiae* isolated from tilapia in China. **Veterinary microbiology**, v. 167, n. 3–4, p. 719–724, 2013.

LI, L. Q.; CHEEMA, S.; GOEL, N. Group B streptococcal meningitis in a previously healthy man. **Case Reports**, v. 2016, p. bcr2015213999, 2016.

LIBSTER, R. et al. Long-term outcomes of group B streptococcal meningitis. **Pediatrics**, v. 130, n. 1, p. e8–e15, 2012.

LICHT, A. et al. Structural and functional characterization of a maltose/maltodextrin ABC transporter comprising a single solute binding domain (MalE) fused to the

transmembrane subunit MalF. **Research in microbiology**, v. 170, n. 1, p. 1–12, 2019.

LIM, C.; WEBSTER, C. **Tilapia: Biology, Culture, and Nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2006.

LOUTHRENOO, W. et al. Streptococcus agalactiae: an emerging cause of septic arthritis. **JCR: Journal of Clinical Rheumatology**, v. 20, n. 2, p. 74–78, 2014.

MADRID, L. et al. Infant group B streptococcal disease incidence and serotypes worldwide: systematic review and meta-analyses. **Clinical infectious diseases**, v. 65, n. suppl_2, p. S160–S172, 2017.

MAISEY, H. C.; DORAN, K. S.; NIZET, V. Recent advances in understanding the molecular basis of group B Streptococcus virulence. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 10, 2008.

MATSUBARA, K. et al. Group B streptococcal disease in infants in the first year of life: a nationwide surveillance study in Japan, 2011–2015. **Infection**, v. 45, n. 4, p. 449–458, 2017.

MCKENNA, D. S.; IAMS, J. D. Group B streptococcal infections. **Seminars in Perinatology**, v. 22, n. 4, p. 267–276, 1998.

MELIN, P. et al. Towards a Belgian consensus for prevention of perinatal group B streptococcal disease. **Indian journal of medical research.-Delhi**, v. 119, n. S, p. 197–200, 2004.

MIAN, G. F. et al. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. **Veterinary microbiology**, v. 136, n. 1–2, p. 180–183, 2009.

MINKOFF, H. L. et al. Vaginal colonization with Group B beta-hemolytic streptococcus as a risk factor for post-cesarean section febrile morbidity. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 142, n. 8, p. 992–995, 1982.

MUNGUBE, E. O. et al. Reduced milk production in udder quarters with subclinical mastitis and associated economic losses in crossbred dairy cows in Ethiopia. **Tropical animal health and production**, v. 37, n. 6, p. 503–512, 2005.

NGUYEN, H. T.; KANAI, K.; YOSHIKOSHI, K. Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures. **Aquaculture**, v. 205, n. 1–2, p. 7–17, 2002.

NOLLA, J. M. et al. Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) pyogenic arthritis in nonpregnant adults. **Medicine**, v. 82, n. 2, p. 119–128, 2003.

PÉREZ-MORENO, M. O. et al. Group B streptococcal bacteriuria during pregnancy as a risk factor for maternal intrapartum colonization: a prospective cohort study. **Journal of medical microbiology**, v. 66, n. 4, p. 454–460, 2017.

PHARES, C. R. et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. **Jama**, v. 299, n. 17, p. 2056–2065, 2008.

POOLMAN, B.; SPITZER, J. J.; WOOD, J. M. Bacterial osmosensing: roles of membrane structure and electrostatics in lipid–protein and protein–protein interactions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1666, n. 1, p. 88–104, 2004.

PREVENTION, C. FOR D. C. AND. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, *Neisseria meningitidis*, 2010. **Top of Page View Page In: pdf icon PDF [52K] Page last reviewed: April**, v. 6, p. 2012, 2011.

QUAN, V. et al. Invasive group B streptococcal disease in South Africa: importance of surveillance methodology. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0152524, 2016.

QUINN, P. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. 2. ed. St Louis: Mosby, 2013.

RAABE, V. N.; SHANE, A. L. Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). **Microbiology spectrum**, v. 7, n. 2, p. 2–7, 2019.

RIVERA, L. et al. Incidence and serotype distribution of invasive group B streptococcal disease in young infants: a multi-country observational study. **BMC pediatrics**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2015.

RODRIGUES, C. A. G. et al. Áreas potenciais para a criação de rã-touro gigante *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) na região Sudeste do Brasil. **Embrapa Territorial-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2010.

ROMERO, R. et al. Is there an association between colonization with group B Streptococcus and prematurity? **The Journal of Reproductive Medicine**, v. 34, n. 10, p. 797–801, 1989.

ROUSE, D. J. et al. The maternal-fetal medicine units cesarean registry: chorioamnionitis at term and its duration—relationship to outcomes. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 191, n. 1, p. 211–216, 2004.

SANDY, C. Milk Quality Pays: Streptococcus agalactiae (Strep ag) Mastitis. **A review can. vet J**, p. 1–5, 2011.

SAURIN, W.; HOFNUNG, M.; DASSA, E. Getting in or out: early segregation between importers and exporters in the evolution of ATP-binding cassette (ABC) transporters. **Journal of molecular evolution**, v. 48, n. 1, p. 22–41, 1999.

SCHRAG, S. J. et al. Epidemiology of invasive early-onset neonatal sepsis, 2005 to 2014. **Pediatrics**, v. 138, n. 6, 2016.

SCHRAG, S. J.; VERANI, J. R. Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease: experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine. **Vaccine**, v. 31, p. D20–D26, 2013.

SCHUCHAT, A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 3, p. 497–513, 1998.

SENDI, P. et al. Group B streptococcus in prosthetic hip and knee joint-associated infections. **Journal of Hospital Infection**, v. 79, n. 1, p. 64–69, 2011.

SENDI, P.; JOHANSSON, L.; NORRBY-TEGLUND, A. Invasive group B streptococcal disease in non-pregnant adults. **Infection**, v. 36, n. 2, p. 100–111, 2008a.

SENDI, P.; JOHANSSON, L.; NORRBY-TEGLUND, A. Invasive group B streptococcal disease in non-pregnant adults. **Infection**, v. 36, n. 2, p. 100–111, 2008b.

SHANE, A. L.; STOLL, B. J. Neonatal sepsis: progress towards improved outcomes. **Journal of Infection**, v. 68, p. S24–S32, 2014.

SILVA, G. R. DA. Infecção por *Streptococcus agalactiae* em rãs touro (*Lithobates catesbeianus*) cultivadas em sistema inundado. 2020.

SKOFF, T. H. et al. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990–2007. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 1, p. 85–92, 2009.

SKOLNIK, K. et al. Group B streptococcus (GBS) is an important pathogen in human disease-but what about in cystic fibrosis? **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1–8, 2017.

SNEDECOR, G.; COCHRAN, W. **Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology**. 5. ed. Ames: Iowa State University Press, 1974.

STOLL, B. J. et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. **Pediatrics**, v. 127, n. 5, p. 817–826, 2011.

TAVELLA, A. et al. Isolation of *Streptococcus agalactiae* in a female llama (*Lama glama*) in South Tyrol (Italy). **BMC veterinary research**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2018.

TAZI, A. et al. Invasive group B streptococcal infections in adults, France (2007–2010). **Clinical microbiology and infection**, v. 17, n. 10, p. 1587–1589, 2011.

TEIXEIRA, T. H. D.; CASTRO, R. C. D.; PEREIRA, M. D. A. EFICIÊNCIA DA BLITZ TERAPIA NA ERRADICAÇÃO DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EM REBANHO BOVINO LEITEIRO. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 6, n. 2, 2017.

The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. [s.l.] FAO, 2022.

THOMAS, C.; TAMPÉ, R. Structural and mechanistic principles of ABC transporters. **Annual review of biochemistry**, v. 89, p. 605–636, 2020.

TITA, A. T. N.; ANDREWS, W. W. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. **Clinics in perinatology**, v. 37, n. 2, p. 339–354, 2010.

TRIVALLE, C. et al. Group B streptococcal bacteraemia in the elderly. **Journal of medical microbiology**, v. 47, n. 7, p. 649–652, 1998.

TYRRELL, G. J. et al. Invasive disease due to group B streptococcal infection in adults: results from a Canadian, population-based, active laboratory surveillance study—1996. **The Journal of infectious diseases**, v. 182, n. 1, p. 168–173, 2000.

ULETT, K. B. et al. Diversity of group B streptococcus serotypes causing urinary tract infection in adults. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2055–2060, 2009.

VERANI, J. R.; MCGEE, L.; SCHRAG, S. J. **Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010**. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and ..., , 2010.

VERGHESE, A. et al. Group B streptococcal pneumonia in the elderly. **Archives of Internal Medicine**, v. 142, n. 9, p. 1642–1645, 1982.

WONGSATHEIN, D. Factors affecting experimental *Streptococcus agalactiae* infection in tilapia, *Oreochromis niloticus*. 2012.

YANCEY, M. K. et al. Peripartum infection associated with vaginal group B streptococcal colonization. **Obstetrics & Gynecology**, v. 84, n. 5, p. 816–819, 1994.

YI, M. et al. An investigation into the effects of *Streptococcus agalactiae* on the 5-HT system and the behavior of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Reports**, v. 15, p. 100232, 2019.

ZELLER, V. et al. Group B streptococcal prosthetic joint infections: a retrospective study of 30 cases. **La Presse Medicale**, v. 38, n. 11, p. 1577–1584, 2009.