

**MINISTÉRIO EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

**Telma Sousa Pires**

**COLONIZAÇÃO PELO STREPTOCOCCUS DO GRUPO B: PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO, CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS, EM MULHERES NO TERCEIRO TRIMESTRE DE GESTAÇÃO, ATENDIDAS POR SERVIÇO DE REFERÊNCIA MATERNO INFANTIL DE GOIÂNIA-GOIÁS**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Dalva Turchi**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cláudia Dantas P. B. André**

**Dissertação de Mestrado**

**Goiânia – GO, 2009.**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

**Telma Sousa Pires**

**COLONIZAÇÃO PELO STREPTOCOCCUS DO GRUPO B: PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO, CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS, EM MULHERES NO TERCEIRO TRIMESTRE DE GESTAÇÃO, ATENDIDAS POR SERVIÇO DE REFERÊNCIA MATERNO INFANTIL DE GOIÂNIA-GOIÁS**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Dalva Turchi**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cláudia Dantas P. B. André**

Dissertação submetida ao PPGMT do IPTSP da UFG como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre na área de concentração de Epidemiologia

**Goiânia – GO, 2009.**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)  
GPT/BC/UFG**

P667c	<p>Pires, Telma Sousa.</p> <p>Colonização pelo <i>streptococcus</i> do grupo b: prevalência, fatores de risco, características fenotípicas e genotípicas, em mulheres no terceiro trimestre de gestação, atendidas por serviço de referência materno infantil de Goiânia-Goiás [manuscrito] / Telma Sousa Pires. - 2009. 68 f. : il., figs.</p> <p>Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marília Dalva Turchi; Co-Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Cláudia Dantas B. P. André. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2009. Bibliografia. Inclui lista de figuras, siglas, tabelas e abreviaturas. Anexos.</p> <p>1. <i>Streptococcus</i>. 2. Gravidez. 3. Hospital Materno Infantil – Goiânia (Goiás) I. Título.</p> <p>CDU:616.98-055.2(817.3)</p>
-------	---

Dedico esse trabalho à minha mãe que sempre incentivou meus estudos, aos meus filhos, Bruna e Helton Filho, e a meu esposo Helton, que muitas vezes abdicaram de minha presença para que eu pudesse concluir esta etapa na vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro a Deus por realizar este sonho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Dalva Turchi, minha orientadora, pela dedicação, oportunidade de aprendizado e paciência que teve comigo ao longo deste estudo.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cláudia Dantas P. B. André, minha co-orientadora que aceitou fazer parte deste estudo, pelos ensinamentos e pelos exames realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Microbiologia do IPTSP.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Sampaio Sgambatti de Andrade, pelas valiosas sugestões na minha banca de qualificação e pela oportunidade de realização de exames, que melhoram a qualidade desta pesquisa.

Ao Dr<sup>o</sup> Vardeli Alves de Moraes pelo incentivo na realização do projeto de pesquisa e pelas sugestões que melhoraram a qualidade deste estudo.

À Dr<sup>a</sup>. Juliana Lamaro Cardoso pela grande colaboração na realização dos exames microbiológicos.

À Dr<sup>a</sup>. Luíza Emylce Pelá Rosado Schmaltz, chefe do serviço de obstetrícia do Hospital Materno Infantil por autorizar e estimular a realização deste trabalho.

Aos Diretores do Hospital Materno Infantil por apoiar a produção científica no Hospital.

Aos professores do programa de pós-graduação do IPTSP pelo aprendizado.

À Orisneuma Maria Peres que trabalhou comigo como auxiliar de pesquisa.

À minha colega de trabalho Disley Xavier Rodrigues que me auxiliou na produção de meios de cultura.

Às gestantes que participaram do estudo.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAP	Academia Americana de Pediatria
ACGO	Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia
BHI	Brain Heart Infusion
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Ácido Desoxibionucleico
DST	Doença Sexualmente Transmissível
EGB	Estreptococo beta-hemolítico do grupo B
EUA	Estados Unidos da América
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HPV	Papilomavírus Humano
ITU	Infecção do Trato Urinário
MLSB	Macrolídeos, lincosamídeos e estreptograminas B
MLST	Multilocus sequence typing
OR	Odds-ratio
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PFGE	Eletroforese em gel em campo pulsado
RN	Recém-nascido
RNA	Ácido Ribonucléico
µg	Micrograma
MI	Mililitro
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UPGMA	Unweighted Pair-Groups Method

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1</b>	Prevalência da colonização pelo EGB no Brasil	12
<b>FIGURA 2</b>	Hemólise em Ágar sangue	26
<b>FIGURA 3</b>	Colônias de beta-hemólise	26
<b>FIGURA 4</b>	Teste de CAMP positivo	26
<b>FIGURA 5</b>	Relação clonal de <i>Streptococcus agalactiae</i> isolados de gestantes em serviço de referência materno-infantil de Goiânia/GO, estabelecida por PFGE após digestão do DNA com enzima de restrição <i>Sma</i> I. Os clusters são designados por números, pulsotipos (PT) por letras maiúsculas e subtipos (ST) por letras e números	39
<b>Figura 6</b>	Perfil de Sensibilidade dos EGB isolados em 42 amostras, de 30 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	40

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1</b>	Prevalência de colonização pelo EGB em gestantes no Brasil, 1982 a 2008	11
<b>TABELA 2</b>	Características sócio-demográficas de 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	32
<b>TABELA 3</b>	Características obstétricas de 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a junho de 2009	33
<b>TABELA 4</b>	Antecedentes de morbidades clínica em 198 atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	34
<b>TABELA 5</b>	Prevalência de Colonização pelo EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	34
<b>TABELA 6</b>	Análise univariada de fatores sócio-demográficos associados com a colonização do EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	35
<b>TABELA 7</b>	Análise univariada de fatores clínico-obstétrico associados com a colonização do EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	36
<b>TABELA 8</b>	Associação entre fatores de risco sócio-demográficos e colonização pelo EGB em gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009	37
<b>TABELA 9</b>	Associação entre fatores de risco obstétricos e colonização pelo EGB em gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março e junho de 2009	38

**SUMÁRIO**

Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Lista de Abreviaturas	v
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	vii
Sumário	viii
Resumo	x
Abstract	xi
1 Introdução	1
1.1 Breve histórico	1
1.2 Aspectos microbiológicos do EGB	2
1.3 Colonização e infecção pelo EGB em gestantes e recém-nascidos	4
1.3.1 Influência da colonização pelo EGB durante a gravidez	5
1.3.2 Influência da colonização pelo EGB durante a gestação no prognóstico do concepto	5
1.4 Epidemiologia da infecção pelo EGB em gestantes e recém-nascidos	7
1.5 Diagnóstico laboratorial da colonização pelo EGB	12
1.5.1 Isolamento e identificação	12
1.5.2 Testes rápidos	13
1.5.3 Suscetibilidade antimicrobiana	14
1.5.4 PFGE	15
1.6 Estratégias para a prevenção da Doença de Início Precoce	15
1.7 Perspectivas para o desenvolvimento de vacinas	19
2 Justificativa	21
3 Objetivos	22
3.1 Objetivo Geral	22
3.2 Objetivos Específicos	22

4	Metodologia	23
	4.1 Delineamento	23
	4.2 População	23
	4.2.1 Critérios de inclusão	23
	4.2.2 Critérios de exclusão	23
	4.2.3 Cálculo do tamanho da amostra	24
	4.3. Entrevista	24
	4.4 Coleta e processamento de amostras biológicas	24
	4.4.1 Transporte das amostras	25
	4.4.2 Isolamento e Identificação	25
	4.4.2.1 Isolamento	25
	4.4.2.2 Identificação	25
	4.4.2.3 Teste de CAMP	26
	4.4.3 Suscetibilidade aos antimicrobianos	27
	4.4.4 PFGE	27
	4.5 Processamento e análise de dados	29
	4.6 Considerações éticas	30
5	Resultados	31
	5.1 Características sócio-demográficas, clínicas e obstétricas	31
	5.2 Prevalência e fatores associados à colonização pelo EBG	34
	5.3 Perfil fenotípico e genotípico dos isolados	38
6	Discussão	41
7	Conclusões e Recomendações	48
8	Referências Bibliográficas	49
	Anexos	
	Questionário	60
	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	63
	Consentimento da participação da pessoa como sujeito	66
	Fluxograma da realização do trabalho	67
	Parecer do Comitê de Ética	68

## RESUMO

**Objetivos:** estimar a prevalência, identificar fatores associados à colonização pelo *Streptococcus* do grupo B (EGB), descrever o perfil fenotípico e genotípico das cepas isoladas em gestantes, em Goiânia, Goiás. **Metodologia:** Estudo transversal envolvendo 198 gestantes a partir da 32ª semana, atendidas entre março e junho de 2009, em um serviço de referência materno-infantil, em Goiás. Características sócio-demográficas e obstétricas foram investigadas utilizando um questionário padronizado. Foram coletadas amostras de sítio vaginal e anal e inoculadas no meio seletivo caldo Todd-Hewitt, posteriormente, foram realizados teste de identificação do agente (gram, catalase, CAMP) e de suscetibilidade pela técnica de disco difusão. A diversidade genética foi avaliada por eletroforese em gel em campo pulsado (PFGE). As análises foram realizadas no Instituto de Patologia Tropical Saúde Pública /UFG. Foram utilizados testes de estatística descrita e analítica (Epi Info e SPSS 13.0). **Resultados:** Trinta gestantes estavam colonizadas pelo EGB resultando a prevalência de 15,2% (IC95% 10,5 – 20,9). Em análise univariada, baixa renda e idade  $\leq 19$  anos foram associadas à presença de EGB ( $p < 0,05$ ). O EGB foi isolado em 28 amostras de secreção vaginal e em 14 anal. Doze gestantes apresentavam colonização vaginal e anal. Todos os 42 isolados eram sensíveis à penicilina, vancomicina, ceftriaxona e levofloxacina. Três (7,1%) apresentaram resistência à eritromicina e dois (4,7%) à clindamicina. Foram identificados 19 pulsotipos e quatro clusters. Nove entre 12 pares de cepas positivas (anal e vaginal) eram geneticamente idênticas, dois eram estritamente relacionadas e um par apresentou cepas diferentes. O mesmo perfil genético foi observado em pacientes diferentes. **Conclusões:** Fatores de risco sócio-demográficos e obstétricos apresentaram baixo poder preditivo para colonização, pelo EGB, reforçando a estratégia rastreamento universal por cultura de secreção anorretal das gestantes no terceiro trimestre. Uma grande variabilidade genética entre as cepas de EGB foi evidenciada nas gestantes colonizadas, em Goiânia.

**Unitermos:** Streptococcus grupo B, prevalência, colonização, fatores de risco, suscetibilidade antimicrobiana, PFGE

## ABSTRACT

**Objectives:** to estimate the prevalence, to assess risk factors for Group B *Streptococcus* (GBS) colonization and to describe phenotypic and genotypic characteristics of isolated strains from pregnant women in Goiânia, Goiás. **Methods:** A cross sectional study was carried out among 198 pregnant women, at least at the 32<sup>o</sup> weeks' gestation, attending a reference health unit, from March to June 2009. Socio, demographic and obstetric profiles were investigated using a standard questionnaire. Samples of vaginal and rectal secretion were collected and placed into selective enrichment broth Todd-Hewitt. Tests for GBS identification (gram, catalase and CAMP) followed by susceptibility test using antibiotic disk diffusion technique were performed. Genetic diversity was assessed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Descriptive and analytic statistical tests were applied (Epi Info e SPSS 13.0). Analyses were performed at the Instituto de Patologia Tropical Saúde Pública/UFG. **Results:** Thirty pregnant women were colonized by GBS yielding a prevalence of 15.2% (IC95% 10.5 – 20.9). Pregnant women younger than 20 years and with low income had higher risk of GBS colonization, in univariate analysis ( $p < 0.05$ ). GBS was isolated from 28 vaginal and 14 rectal specimens. Twelve pregnant were vaginal and rectal colonized. All 42 strains were susceptible to penicillin, vancomycin, ceftriaxone and levofloxacin. Three strains (7.1%) were resistant to erythromycin and two (4.7%) to clindamycin. 19 pulsotypes and four clusters were identified. Nine out 12 pairs of positive strains (vaginal and rectal) were genetically identical, two were strictly related and one pair was colonized by different strains. The same genetic profile was observed in more than one pregnant. **Conclusions:** Socioeconomic and obstetrics variables had low predictive value for GBE colonization among pregnant women, reinforcing the need for universal microbiology screening strategy in this population, in order to prevent neonatal sepsis. A high genetic diversity of GBS was found among pregnant women in Goiania.

**Uniterms:** *Streptococcus* group B, prevalence, colonization, risk factors, antimicrobial susceptibility, PFGE

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Breve Histórico

O *Streptococcus* beta-hemolítico do grupo B (EGB) de Lancefield ou *Streptococcus agalactiae* foi reconhecido como importante agente etiológico da mastite bovina antes de ser descrito como patógeno humano (Teixeira et al. 2004). Este agente foi isolado inicialmente por Nocard em 1887 e nomeado como *Streptococcus agalactiae* em 1896, por Lehmann e Neumann, devido ao fato de serem estreptococos isolados do leite associados à mastite bovina (Hardie & Whiley 1997, Castellano-Filho et al. 2008).

O estudo do gênero *Streptococcus* em laboratório foi possível após a introdução de meios de cultura sólidos, no final do século XIX. Já no início do século XX, a utilização de meios com ágar sangue iniciada por Shottmuller et al (1903) possibilitou a diferenciação do padrão de hemólise em alfa beta ou gama hemolíticos, este último não causador de hemólise (Facklam 2002).

Em 1933, Rebecca C Lancefield propôs uma classificação para os estreptococos baseada nas características antigênicas dos polissacarídeos presentes na parede celular desses microrganismos (Lancefield 1933). Um ano após, essa pesquisadora diferenciou sorologicamente as cepas isoladas, classificando o *S. agalactiae* como pertencente ao grupo B (Lancefield 1934). Em 1937, Sherman publicou uma classificação dos estreptococos largamente aceita, tendo como parâmetros um conjunto de dez características fisiológicas e bioquímicas, sendo uma delas a classificação do grupo antigênico proposta por Lancefield. De acordo com essa classificação os estreptococos foram denominados de piogênicos, viridans, láticos e enterococos, sendo que *S. agalactiae* foi incluído no grupo B dos piogênicos, associado com infecções em humanos e animais (Hardie & Whiley 1997).

Em 1935, Cogolon descreveu um caso fatal de sepse puerperal associada com abortamento e Fry, em 1838, relacionou três casos fatais de sepse puerperal com a colonização pelo EGB (Teixeira et al. 2004). A partir de 1960 tornou-se evidente que as infecções ocorridas no período perinatal em gestantes e em recém-nascidos, freqüentemente, estavam relacionadas ao *S. agalactiae*. Durante a década de 1970, observou-se um aumento na incidência dessas infecções, provavelmente relacionado a uma melhor estratégia de investigação. Mundialmente, esse agente continua sendo considerado como a principal causa de corioamnionite, endometrite puerperal, meningite e sepse nos neonatos (Teixeira et al. 2004, Larsen & Sever 2008).

## 1.2 Aspectos microbiológicos do EGB

O gênero *Streptococcus* é constituído por cocos gram-positivos, dispostos aos pares ou em cadeias, catalase negativos, oxidase negativos, imóveis e não-esporulados, anaeróbios facultativos, sendo que a obtenção de energia ocorre através da fermentação dos carboidratos dando origem ao ácido lático como o maior produto da fermentação da glicose (Hardie & Whiley 1997, Koneman et al. 2008).

As primeiras classificações do gênero *Streptococcus* foram baseadas na presença de atividade hemolítica e nas reações sorológicas com anti-soros proposta por Lancefield, ainda na década de 1940. (Teixeira et al. 2004). Os estreptococos são classificados de acordo com sua capacidade de lisar hemácias. Dependendo do tipo de hemólise, observada nos meios de cultura contendo sangue, esses microrganismos são classificados em beta-hemolíticos (quando causam a lise total das hemácias), alfa-hemolíticos (quando causam a lise parcial das hemácias) e gama ou não-hemolíticos (Koneman et al. 2008).

A incapacidade de crescer na presença de bile e a resistência aos antimicrobianos bacitracina e sulfametoxazol-trimetoprim são características fisiológicas do EGB. Apenas essa espécie de *Streptococcus* é capaz de produzir o fator CAMP, descrito em 1944, por Christie, Atkins e Munch-Peterson (Caetano 2008). A presença desse fator é útil para o diagnóstico presuntivo do patógeno

(Wilkinson 1977). O fator CAMP é uma proteína termoestável que intensifica a lise das hemácias produzida pela beta-lisina do *Staphylococcus aureus*, levando ao aparecimento de uma zona de hemólise em forma de seta observada em placas de ágar-sangue de carneiro, quando esses dois microrganismos são semeados em forma de estrias perpendiculares (Wilkinson 1977, Caetano 2008). O fator CAMP é considerado um fator de virulência, devido à sua capacidade de se ligar a imunoglobulinas G e M, via fração Fc e serve para o diagnóstico presuntivo de EGB (Caetano 2008).

O EGB é a única espécie do gênero que possui o antígeno do grupo B. Esse antígeno é um polissacarídeo de superfície celular tipo-específico, composto por ramnose, n-acetilglicosamina e galactose (Teixeira et al. 2004). Formam colônias de 3 a 4 mm de diâmetro, branco-acinzentadas, lisas e cremosas, com uma estreita zona de beta-hemólise e, tipicamente, produzem zonas de hemólise maiores que a próprias colônias (Jawetz et al. 1995).

Os *S. agalactiae* são classificados em nove sorotipos capsulares (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII e VIII). O antígeno protéico é designado pela letra c e é encontrado em todas as cepas do tipo Ib, em 60% das cepas do tipo II e em poucas cepas do tipo III. Assim, a designação dos sorotipos contendo o antígeno c são expressas como Ib/c e II/c (Winn et al. 2006). Esta classificação é importante para o conhecimento do perfil epidemiológico (distribuição sorotípica) desse agente; para o desenvolvimento de vacinas multivalentes e para a avaliação da patogenicidade, pois o grau de virulência parece estar associado ao sorotipo. Cinco sorotipos (Ia, Ib, II, III e V) têm sido mais comumente descritos em gestantes e neonatos com sepse precoce, nos Estados Unidos e Europa. (Teixeira et al. 2004, El Beitune et al. 2006). Os sorotipos VI e VII foram isolados predominantemente em mulheres japoneses (Lachenauer et al. 1999) e, um estudo aponta para uma maior frequência do sorotipo I em gestantes, na América Latina, (Benchetrit et al. 1982).

A caracterização fenotípica do EGB baseia-se na classificação sorológica e no perfil de sensibilidade antimicrobiana desse agente. Esses microrganismos são sensíveis à penicilina e aos outros antibióticos beta-lactâmicos e são resistentes à

gentamicina e ao ácido nalidíxico (Schuchat 1998). Na última década, alguns estudos têm descrito um aumento de cepas resistentes, especialmente à eritromicina e à clindamicina, drogas utilizadas na profilaxia da transmissão vertical do *S. agalactiae* em mulheres alérgicas à penicilina (Martinez et al. 2000, von Both et al. 2003, Simões et al. 2007, Rojo et al. 2008).

Mudanças na nomenclatura e na taxonomia do gênero *Streptococcus* foram numerosas e variadas, a partir de 1984. De modo resumido, essas mudanças foram embasadas por estudos da composição da parede celular, por comparação de coleções de cepas classificadas com diferentes taxonomias, por estudos metabólicos e por análises com utilização de técnicas moleculares (hibridização DNA-DNA, hibridização DNA-RNA ribossômico e o seqüenciamento da subunidade 16S do RNA ribossômico) (Hardie & Whiley 1997, Facklam 2002, Castellano-Filho et al. 2008). Mais recentemente, têm sido desenvolvidos e utilizados métodos de genotipagem como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Eletroforese em gel em campo pulsado (Pulsed field gel electrophoresis – PFGE) e “Multilocus sequence typing” (MLST) para cepas de EGB, com potencial para identificação de clones virulentos (Quentin et al. 1995, Martinez et al. 2000).

### **1.3 Colonização e infecção pelo EGB em gestantes e recém-nascidos**

O trato gastrintestinal é o principal reservatório do EGB. Estima-se que a colonização do trato digestivo baixo, por esse microorganismo, ocorra em cerca de um terço das mulheres (Dillon et al. 1982). A partir do trato gastrintestinal, o EGB coloniza a vagina e, menos frequentemente, o trato urinário (Katz 1993). A aderência do EGB à superfície das mucosas dos tratos geniturinário e gastrintestinal representa o evento inicial dessa infecção (Galask et al. 1984). A presença do patógeno nestes sítios durante o parto é o principal fator para a infecção dos recém-nascidos, por via ascendente (Moller et al. 1984). Estima-se que 50% dos RN de mães colonizadas adquiram essa bactéria e que 1 a 2% deles desenvolverão formas graves da infecção (Bromberger et al. 2000).

### **1.3.1 Influência da colonização pelo EGB durante a gravidez**

A colonização pelo EGB, em gestantes pode ocorrer de forma transitória, intermitente ou persistente. Grávidas colonizadas pelo EBG geralmente são assintomáticas, porém, apresentam risco de desenvolver bacteremia, corioamniinite, endometrite, sepse, como complicações após parto e, raramente, meningite (Baker & Kasper 1985, Schrag et al. 2002). Segundo alguns pesquisadores, as gestantes colonizadas pelo EGB, apresentam, também, risco de abortamento espontâneo, de ruptura prematura de membranas, de trabalho de parto prematuro e de recém-nascidos com baixo-peso (Regan et al. 1991, Feikin et al. 2001). Entretanto, outros estudos não evidenciaram efeito adverso da colonização pelo EGB na gestação (Garland & Fliegner 1991, El Beitune et al. 2006). Além de complicações obstétricas, estima-se que o EGB cause infecção urinária em 2% a 4% das grávidas.

### **1.3.2 Influência da colonização pelo EGB durante a gestação no prognóstico do concepto**

A principal consequência da colonização materna pelo EGB é a infecção neonatal grave, decorrente da transmissão vertical desse agente (Baker & Morven 1995). Entre os recém-nascidos, o EGB representa importante causa de pneumonia e septicemia, com grande morbidade e mortalidade no período neonatal. O recém-nascido adquire a infecção por transmissão vertical, a partir da mãe colonizada, ou por exposição hospitalar, após o nascimento (Brian & Rodney 1996, Edwards 2006).

De acordo com o momento do aparecimento dos sintomas, a infecção estreptocócica nos neonatos pode ser classificada em precoce ou tardia.

A doença de início precoce está associada à colonização pelo EGB durante o período perinatal, atingindo cerca de 1 a 2% dos neonatos das parturientes colonizadas (Schrag et al. 2002). A transmissão do patógeno ocorre através da ruptura das membranas fetais, aspiração de líquido amniótico contaminado ou

durante a passagem pelo canal do parto colonizado com esse microrganismo (Baker & Morven 1995, Teixeira et al. 2004). O início da doença ocorre nos primeiros cinco dias de vida e, em mais da metade dos casos, as crianças adoecem 12 a 20 horas após o nascimento, com mortalidade estimada entre 2% a 8% (Franciosi et al. 1973, Baker & Morven 1995). Em prematuros, essas taxas são mais altas e inversamente proporcionais ao peso ao nascer (Schuchat et al. 2000).

O recém-nascido pré-termo apresenta limitações de defesa imunológica, pois a passagem de anticorpos maternos geralmente ocorre após 32 semanas de gestação e a capacidade de opsonização e fagocitose são muito baixas no período neonatal (Regan et al. 1991, Perroni et al. 1999). O risco de infecção precoce nos neonatos prematuros também se justifica pelo fato de a imaturidade anatômica, bioquímica e imunológica pulmonar do RN prematuro, particularmente daqueles de muito baixo peso, favorecer a multiplicação rápida do EGB e a evolução fulminante da doença. Estudos demonstram que a expressão da beta-hemolisina do EGB está diretamente relacionada com a lesão de células pulmonares, *in vitro* (Grassi et al. 2001).

As manifestações clínicas predominantes são bacteremia, pneumonia, meningite, choque séptico e neutropenia. As seqüelas neurológicas incluem retardo mental surdez e cegueira (McCracken 1973, Ancona et al. 1980, Payne et al. 1988, Schrag et al. 2000).

A doença de início tardio é evidenciada entre sete dias até três meses, após o nascimento, com mortalidade estimada em 10% a 15% (Baker & Morven 1995, Schrag et al. 2000). A principal via de aquisição, da doença de início tardio, é através do canal de parto das mães colonizadas, mas a contaminação pós-natal do microrganismo ocorre a partir da mãe, de pessoas que cuidam da criança e do ambiente hospitalar (Paredes et al. 1977). A manifestação clínica predominante é a bacteremia com meningite, que, em até 50% dos casos leva ao comprometimento e sequelas neurológicas graves (Schrag et al. 2000, Turow & Spitzer 2000).

#### **1.4. Epidemiologia da infecção pelo EGB em gestantes e recém-nascidos**

A incidência da infecção neonatal pelo EGB varia de acordo com a forma clínica da doença: na precoce a incidência é em torno de 0,7 a 3,7 por 1.000 nascidos vivos, com letalidade média de 10% a 15%, principalmente em recém-nascidos prematuros e de baixo peso, e na tardia acomete 0,5 a 1,8 por mil nascidos vivos, com letalidade variando de 2% a 6% (Baker & Morven 1995).

Os níveis de anticorpos maternos contra o EGB estão relacionados com a suscetibilidade do recém-nascido à doença invasiva. A transferência dos anticorpos maternos da classe IgG, ocorre de forma passiva através da placenta, principalmente nas últimas oito semanas de gestação, o que torna o recém-nascido prematuro uma criança de risco para a aquisição da doença invasiva pelo EGB (Baker & Morven 1995). Os outros fatores de risco, para sepse neonatal são: ruptura da membrana amniocoriônica por mais de 18 horas, temperatura superior a 38°C durante o trabalho de parto, história de feto anterior acometido com EGB e infecção urinária na gestação pelo EGB (Schuchat 1998).

Fatores sócio-demográficos, antecedentes ginecológicos e obstétricos foram amplamente investigados, na literatura científica, como preditores de risco para colonização pelo EGB, em gestantes. Os resultados desses estudos são, muitas vezes, conflitantes. As variáveis mais investigadas foram idade, raça, número de gestações prévias, nível sócio-econômico, número de parceiros sexuais (no período de um ano anterior à gestação), frequência de relações sexuais, uso de dispositivo intra-uterino ou tampões, tabagismo e diabetes (Regan et al. 1991, Schuchat 1998, Edwards 2006, El Beitune et al. 2006, Simões et al. 2007, Larsen & Sever 2008).

A epidemiologia do EGB, tanto na gestante como no neonato, tem sido muito estudada nos EUA e Europa, mas não na América Latina (Pogere et al. 2005). No Brasil, o EGB não foi ainda devidamente valorizado na etiologia dos processos infecciosos que acometem os recém-nascidos e as puérperas (Beraldo et al. 2004). Os estudos realizados sobre o tema em nosso país indicam que o EGB pode ter importante papel na sepse de início precoce (Beraldo et al. 2004, Silveira & Fiori

2004, Borger et al. 2005, Pogere et al. 2005).

Para identificar estudos sobre prevalência e fatores de risco para colonização pelo EGB em gestantes, no Brasil, realizamos uma revisão nas bases de dados Medline e Lilacs, utilizando os unitermos: prevalence, Group B *Streptococcus. S agalactiae*, pregnant, pregnancy, Brazil. Foram incluídos os estudos publicados a partir de 1980. A tabela 1 apresenta um sumário dessas publicações, em ordem cronológica. No total foram identificados 19 estudos, predominantemente conduzidos em serviços de referência ou maternidades-escola das regiões sul e sudeste do Brasil. A figura 1 mostra os resultados dos estudos de prevalência realizados no Brasil por regiões geográficas. A maioria dos estudos encontrou prevalências de colonização do EGB, entre 15 e 20%.

Estudo pioneiro no Brasil, realizado no estado do Rio de Janeiro em 1982, para avaliar a prevalência da colonização pelo EGB entre mulheres que não estavam grávidas e mulheres grávidas, bem como de seus neonatos, revelou taxa de colonização materna de 18,6% e colonização de 15,4% dos recém-nascidos das participantes do estudo que apresentam cultura positiva para EGB (Benchetrit et al. 1982).

Em São Paulo, estudo sobre a incidência de septicemia neonatal por EGB, detectou 13% de positividade para esta bactéria entre as gestantes em trabalho de parto prematuro, mas somente a amostragem vaginal foi realizada e o método de cultura não foi especificado. Nesta pesquisa, a incidência de infecção neonatal foi de 0,39 casos por 1000 nascidos vivos, taxa menor que em países desenvolvidos. Embora a incidência de infecção por EGB na população deste estudo tenha sido menor do que a descrita em países desenvolvidos, a taxa de mortalidade foi mais elevada, o que poderia ser reduzido através de reconhecimento dos fatores de risco e profilaxia durante o trabalho de parto (Vaciloto et al. 2002).

Outro estudo sobre a colonização pelo EGB, em 273 gestantes, em Santa Catarina, entre 2002 e 2003, evidenciou uma prevalência de 21,6% de gestantes colonizadas por esse agente, sendo que 9,9% delas apresentavam colonização anal

e vaginal, 6,9% colonização apenas vaginal e 4,7% apenas no sítio anal. A prevalência de EGB foi ligeiramente mais alta em gestantes com idade inferior a 20 anos, naquelas com menor escolaridade e nas gestantes primíparas e o dobro entre aquelas que não relataram aborto espontâneo, ainda que estas diferenças não tenham sido estatisticamente significantes. De acordo com os autores, esse estudo corrobora a indicação para pesquisa de EGB nos sítios anal e vaginal de todas as gestantes, no terceiro trimestre de gestação (Pogere et al. 2005) .

Em 2004 foi realizado um estudo para identificar a prevalência da colonização materna pelo EGB e comparar a capacidade de detecção do EGB entre os meios de cultura Todd-Hewitt enriquecido com gentamicina e ácido nalidíxico, que consiste em um meio seletivo que inibe o crescimento de bactérias gram-negativas, e o ágar sangue que é um meio não-seletivo. A colonização pelo EGB nas mulheres em trabalho de parto prematuro foi de 25,2% e de 30,5% nas mulheres com ruptura prematura de membranas. O meio de cultura seletivo foi capaz de isolar o microrganismo em 87,5 das gestantes e o isolamento foi de 60,7% utilizando o meio não-seletivo (Nomura et al. 2006).

No Hospital Universitário de Jundiaí foi realizado um estudo de corte transversal entre 2003 e 2004, para estimar a prevalência e fatores de risco associados à colonização retal e vaginal pelo EGB, bem como para analisar as características fenotípicas desse agente, em parturientes. A prevalência de EGB, na amostra estudada foi de 14,6%, não sendo evidenciada associação estatisticamente significativa entre sorotipo e a resistência antimicrobiana (Simões et al. 2007).

Uma coorte prospectiva realizada em 2004 em uma maternidade de Manaus com o objetivo de evidenciar os fatores de risco maternos envolvidos na incidência da sepse neonatal precoce aponta que o principal microrganismo isolado nas hemoculturas dos recém-nascidos foi o *S. agalactiae* com 48,5% do total das hemoculturas positivas, ressaltando a importância de identificar os fatores de risco maternos associados com o diagnóstico de sepse neonatal e da instituição de protocolos de prevenção durante o pré-natal e o trabalho de parto (Pinheiro et al. 2007).

Em um trabalho sobre a colonização por *Streptococcus agalactiae* desenvolvido na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, entre 2003 e 2004, foram avaliadas 167 gestantes, 14 diabéticas e 153 não diabéticas entre a 32<sup>a</sup> e 41<sup>a</sup> semanas de gestação. A frequência de colonização vaginal-anal foi de 19,2%, não havendo diferenças, estatisticamente significantes, na frequência de colonização em relação à idade e ao número de gestações anteriores. A análise estatística mostrou não haver associação entre a maior frequência de colonização pelo EGB nas gestantes diabéticas quando comparadas com as não-diabéticas, o que pode ser justificado pelo limitado número de pacientes diabéticas estudadas (8,4%) (Borger et al. 2005).

Para estabelecer a frequência da colonização por EGB em gestantes entre 35 e 37 semanas de gestação, infectadas pelo vírus da imunodeficiência adquirida tipo 1 (HIV-1) e os fatores de risco com esta associação, foi realizado um estudo prospectivo entre novembro de 2002 e abril de 2004, na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Foram estudadas 207 gestantes entre 16 e 43 anos de idade, divididas em dois grupos: 101 infectadas pelo HIV e 106 não infectadas pelo HIV. Entre as pacientes HIV positivas a prevalência de colonização pelo EGB encontrada foi de 19,8% e nas soronegativas foi de 14,2%, sem diferença estatisticamente significativa (El Beitune et al. 2006).

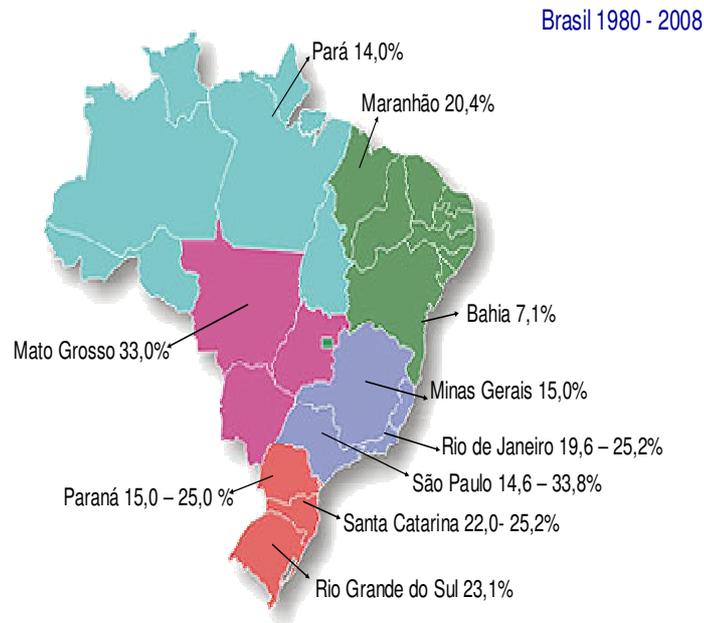
Estudo recente sobre a colonização por EGB em gestantes atendidas em maternidade pública no Maranhão revelou a prevalência da colonização materna de 20,4%, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis sócio-demográficas ou antecedentes obstétricos. Nesta casuística, encontraram-se porcentagens de resistência antimicrobiana de 12,7% para ceftriaxona, de 23,6% para eritromicina e de 25,4 para clindamicina (Costa et al. 2008).

TABELA 1 – Prevalência de colonização pelo EGB em gestantes no Brasil, 1982 a 2008.

Autor, Ano de Publicação	Local, Data do Estudo	População		
		Total	Colonizadas EGB	Prevalências % (IC 95%)
Benchetrit et al., 1982	Rio de Janeiro, 1980-1981	86	22	25,6 (16,8-36,1)
Rocha et al., 1984	São Paulo, 1983	35	6	17,0 (6,6 – 33,6)
Mocelin et al., 1995	Paraná, NI	100	15	15,0 (8,6 – 23,5)
Smânia Júnior et al., 1996	Florianópolis, NI	135	34	25,2 (18,1 – 33,4)
Pellegrini R., 1999	Salvador, NI	288	20	7,1 (4,4 – 10,8)
Ribeiro, KD, 2003	Pará, 2002	50	7	14,0 (5,8 – 26,7)
Beraldo et al., 2004	Londrina, 2002-2003	309	46	14,9 (11,2 – 19,3)
El Beitune et al , 2004	Ribeirão Preto, 2002- 2004	207	70	33,8 (27,4 – 40,7)
Borger et al , 2005	Rio de Janeiro, 2003-2004	167	32	19,2 (13,5 – 26,0)
Pogere et al.,2005	Santa Catarina, 2002-2003	273	60	22,0 (17,2 – 27,3)
Nomura et al., 2006	São Paulo, 2003-2004	203	56	27,6 (21,6 – 34,2)
Silveira et al., 2006	Porto Alegre, 2005-2006	121	28	23,1 (16,0 – 31,7)
Zuzman et al., 2006	Ribeirão Preto,1999	598	107	17,9 (14,9 – 21,2)
Simões et al., 2007	Campinas,2003-2004	316	46	14,6 (10,8 – 18,9)
Caetano, 2008	Minas Gerais, 2006-2007	300	45	15,0 (11,5 – 19,5)
Chaves Júnior et al., 2008	Maringá, NI	102	25	24,5 (16,5 – 34,0)
Costa et al., 2008	São Luís, 2005-2006	201	41	20,4 (15,0 – 26,6)
Darian et al., 2008	Cuiabá, 2006-2007	200	66	33,0 (22,5 – 40,0)

NI = Não Informa

## Epidemiologia da colonização pelo EGB em gestantes no Brasil



**FIGURA 1** – Prevalência da colonização pelo EGB no Brasil.

### 1.5 Diagnóstico laboratorial da colonização pelo EGB

#### 1.5.1 Isolamento e identificação

A detecção de colonização em grávidas pelo EGB é fundamental para se propor estratégias de prevenção e profilaxia, reduzir a transmissão vertical para os recém-nascidos e, conseqüentemente, diminuir a mortalidade, morbidade e as graves seqüelas nos neonatos (Koneman et al. 2008). A cultura é o padrão-ouro para detecção do EGB e deve ser realizada com amostras coletadas entre 35 e 37 semanas de gestação, por meio de swab colhido no terço distal da vagina e na região anorretal (Schrag et al. 2002). Os microrganismos isolados nesse meio seletivo, suspeitos de serem estreptococos, devem ser submetidos à prova de

Christie, Atkins e Munch-Peterson (CAMP), cujo resultado positivo identifica presuntivamente o *S. agalactiae* (Wilkinson 1977).

O uso de meios seletivos que contenham agentes antimicrobianos para inibir o crescimento de outros microrganismos aumenta em 50% a possibilidade de isolamento do EGB (Schrag et al. 2002). O meio de cultura mais indicado é o caldo de Todd-Hewitt suplementado com gentamicina na concentração de 4-8 µg/mL e ácido nalidíxico na concentração de 15 µg/mL (Schrag et al. 2002, Edwards 2006).

A cultura para isolamento da bactéria pode alcançar eficácia máxima quando alguns cuidados são observados: idade gestacional em que se realiza a cultura, escolha de sítios anatômicos para a coleta da amostra e métodos microbiológicos precisos para a cultura e detecção do EGB (Schrag et al. 2002).

Entre as limitações da utilização de cultura de microrganismos para detecção do SBG cita-se a necessidade de organismos viáveis na amostra coletada, a demora para obtenção de resultados e a baixa sensibilidade do método, variando de 50 a 60%, nas melhores casuísticas (Schuchat et al. 2002, El Beitune et al. 2006).

### **1.5.2 Testes rápidos**

Na década de 80 iniciaram os estudos para desenvolver testes rápidos, com a utilização de métodos de fixação de látex, para detecção da colonização pelo EGB, com a finalidade de fornecer resultados em, tempo hábil, para a tomada de decisões clínicas por obstetras e neonatologistas (Schuchat et al. 2002, El Beitune et al. 2006, Larsen & Sever 2008).

Posteriormente vários testes para detecção rápida da colonização pelo EGB foram desenvolvidos, com ampla variação de desempenho (Schuchat 1998, Larsen & Sever 2008). Honest et al. em 2006, publicaram uma revisão sistemática sobre a acurácia e a rapidez de diferentes testes rápidos. Esses autores identificaram 29 estudos, envolvendo 15.691 gestantes, com avaliação da acurácia de seis diferentes

testes rápidos (Reação em cadeia da polimerase (PCR), imunoenensaio óptico, hibridização de DNA, ensaio imunoenzimático, aglutinação de látex e *Islam starch medium test*). PCR em tempo real e imunoenensaio ópticos apresentaram o melhor desempenho, entretanto, os autores ressaltam a necessidade de estudos consistentes para avaliar acurácia, aceitação e custo-benefício, antes que esses testes sejam implantados na prática clínica (Honest et al. 2006). Até o presente momento, a cultura do EGB continua sendo o padrão ouro para detecção da colonização entre gestantes e parturientes.

### 1.5.3 Suscetibilidade antimicrobiana

O EGB permanece 100% sensível à penicilina, sendo esta a droga de escolha para profilaxia antimicrobiana intraparto por apresentar um espectro mais estreito de atividade antimicrobiana e ser menos provável de propiciar a seleção de organismos resistentes (Schrag et al. 2002). O patógeno também é sensível a outros antibióticos beta-lactâmicos como cefalosporinas, vancomicina e imipenem (Feigin & Cherry 1998, Poyart et al. 2003). Em casos de alergia da paciente à penicilina os antimicrobianos indicados são clindamicina e eritromicina (Schrag et al. 2002). Porém, estudos demonstram a crescente resistência a estes antimicrobianos desde 1996 (Fitoussi et al. 2001, Schrag et al. 2002). Os mecanismos de resistência dos estreptococos aos macrolídeos são: modificação da enzima ribossômica metilase associada aos genes *erm A* e *B*, modificação do sítio alvo da bactéria e efluxo ativo da droga, controlada pelo gene *mef (A)* e mutações no RNAr 23S e nas proteínas ribossômicas L4 e L22 (Fitoussi et al. 2001, Acikgoz et al. 2004). A resistência do EGB aos macrolídeos é expressa pelo fenótipo  $MLS_B$  (macrolídeos, lincosamídeos e estreptograminas B) (Betriu et al. 2001, Acikgoz et al. 2004).

A resistência do EGB a eritromicina é frequente, mas nem sempre associada à resistência à clindamicina (Schrag et al. 2002). A resistência à clindamicina com sensibilidade à eritromicina é relacionada ao gene *linB* (de Azavedo et al. 2001). O EGB é resistente à gentamicina e ácido nalidíxico (Schuchat 1998). Estudos também indicam a alta resistência do EGB à tetraciclina (Betriu et al. 2001, de Azavedo et al. 2001, Poyart et al. 2003).

#### **1.5.4 PFGE**

A utilização de métodos de genotipagem baseados em análise de DNA tem melhorado significativamente os resultados de tipagem epidemiológica. A macrorrestrição do DNA seguida de eletroforese em gel em campo pulsado (PFGE) tem se mostrado uma importante ferramenta na genotipagem do EGB, sendo utilizada para determinar subgrupos da bactéria (Benson & Ferrieri 2001).

A técnica desenvolvida por Schwartz e Cantor em 1984 é uma variação da eletroforese em gel de agarose, onde o campo elétrico varia periodicamente, ou seja, é pulsado. Envolve a digestão do cromossomo por endonucleases de restrição específicas, como a *SmaI* para *S. agalactiae*, que têm relativamente poucos sítios de reconhecimento, gerando perfis de cinco a 20 fragmentos de DNA de aproximadamente 10 a 800 kb. A eletroforese destes fragmentos permite a visualização do perfil de restrição, que compreende uma série de bandas com tamanhos diferentes que podem ser separados efetivamente no campo pulsado. A relação entre os isolados bacterianos é inferida pela similaridade dos perfis de restrição originados (Singer et al. 2004). O PFGE tem sido utilizado para demonstrar que os subgrupos de EGB que infectam seres humanos são altamente clonais e limitados a um número relativamente pequeno de linhagens filogenéticas (Bohnsack et al. 2004).

#### **1.6 Estratégias para a prevenção da doença de início precoce**

O EGB apesar de ser reconhecido como agente desencadeador de infecções perinatais, responsável por alta morbimortalidade, permaneceu pouco estudado até 1970, quando ocorreu aumento importante da incidência de septicemia e meningite em neonatos causados por esse agente (Schrag et al. 2002). Na década seguinte, os índices de infecção neonatal diminuíram após a administração de antibióticos intra-parto para as mulheres identificadas como tendo de fatores de risco para colonização por esse agente (Larsen & Sever 2008).

No final da década de 1990, no Reino Unido foi realizado um estudo multicêntrico com o objetivo de avaliar os pontos fortes, pontos fracos e as lacunas sobre a eficácia da antibioticoprofilaxia intraparto utilizada nas maternidades envolvidas no estudo. Participaram da casuística 30% das gestantes atendidas nas referidas maternidades, a antibioticoprofilaxia foi administrada em 24% das portadoras do EGB e 6% das participantes com riscos relacionados à prematuridade. O estudo comprovou que o rastreamento para EGB e a quimioprofilaxia intraparto contribuíram para a redução na doença de início precoce (Gilbert 2004).

Alguns autores não recomendam o uso do protocolo baseado na cultura, por ser dispendioso e não apresentar maior efetividade do que o fundamentado, apenas nos fatores de risco (Yucesoy et al. 2004). Em contrapartida outros estudos demonstram que a estratégia baseada na pesquisa de colonização pelo EGB para indicar a profilaxia antimicrobiana, intra-parto é mais eficaz, principalmente levando-se em conta que em grande parte das mulheres colonizadas não possuem fatores de risco para infecção do neonatal (Schrag et al. 2002)

Dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), dos Estados Unidos (EUA), demonstram que antes do uso de antibióticos intraparto a incidência da doença invasiva neonatal poderia variar de 2 a 3 casos por 1000 nascidos vivos. Após esforços ativos de prevenção na década de 90, a incidência da doença de início precoce foi de 0,5 casos por 1000 nascidos vivos. A incidência de infecção invasiva de EGB entre mulheres grávidas colonizadas nos EUA declinou para 0,29 por 100 nascidos vivos em 1993 e a 0,23 em 1998, sugerindo que o uso de antibióticos intraparto impediu também alguns casos de amniominitis e endometrite materna. Embora a quimioprofilaxia intraparto para mulheres colonizadas diminua a incidência da doença de início precoce, a incidência da doença de início tardio permaneceu estável, indicando que quimioprofilaxia intraparto é mais eficaz contra a doença de início precoce (Schrag et al. 2002).

Em 1996, recomendações para profilaxia intraparto para prevenir doença perinatal por EGB foram publicadas pelo CDC e pelo Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia (ACOG) e, em 1997, pela Academia Americana de

Pediatria (AAP). Tais recomendações usavam um de dois métodos: conduta baseada no risco ou conduta baseada no rastreamento por cultura (Schrag et al. 2002).

a) Conduta baseada no risco: Identificação de candidatas para profilaxia intraparto de acordo com a presença de fatores de risco associados com doença precoce: parto com menos de 37 semanas; febre intraparto  $> 38^{\circ}\text{C}$  ou ruptura de membranas  $>18$  horas.

b) Conduta baseada no rastreamento por cultura: este método recomenda o *screening* de todas as mulheres entre 35 e 37 semanas de gestação para detecção de colonização por EGB com swab vaginal e retal. As mulheres colonizadas recebem antibióticos intraparto.

Independente de qualquer uma das estratégias, as mulheres com bacteriúria por EGB durante a atual gestação ou com antecedentes de recém-nascido com doença por EGB, devem receber profilaxia intraparto (Schrag et al. 2002). Apesar das recomendações do CDC para prevenir a doença de início precoce por EGB nos neonatos, a maioria das instituições de saúde segue protocolos próprios ou não segue nenhum protocolo de prevenção, pondo em risco a saúde das crianças (Gosling et al. 2002).

Atualmente não existe recomendação oficial do Ministério da Saúde do Brasil, nem consenso ou recomendação oficial sobre o rastreamento para detecção de EGB em gestantes. A Associação Médica Brasileira, através do Projeto Diretrizes, recomenda a realização de cultura no terceiro trimestre, quando houver fatores de risco, porém não é rotina a realização de rastreamento baseada na idade gestacional (Amaral 2005). Em nosso meio, é crescente a preocupação sobre as complicações associadas ao EGB, o rastreamento de gestantes para detecção da colonização por EGB e a profilaxia antimicrobiana intraparto para prevenir a sepse neonatal pelo EGB (Amaral 2005).

A Sociedade Brasileira de Neonatologia possui documento específico sobre a

prevenção da doença perinatal pelo EGB, considerando que a assistência perinatal deve ser prioridade para diminuição da mortalidade materna e infantil, a alta mortalidade neonatal precoce causada pela doença invasiva pelo EGB, a necessidade de conscientização dos profissionais envolvidos com a assistência perinatal na efetivação da pesquisa do EGB na gestação e identificação dos fatores de risco, a necessidade de elaboração de documentos que sirvam de guia para a prática clínica (Costa et al. 2008).

O município de São Paulo segue o Protocolo de Prevenção Neonatal pelo EGB. De acordo com este protocolo, a coleta de amostra para cultura deve ser realizada em todas as gestantes, entre 35 e 36 semanas de gestação para se evitar falhas de diagnóstico negativo na coleta precoce, como também a possibilidade de ocorrência do parto antes do retorno do resultado. A antibioticoprofilaxia intraparto inicia-se 4 horas antes do nascimento, sendo indicada para as pacientes que tiverem cultura positiva para EGB, bacteriúria por EGB na gestação, antecedente de recém-nascido acometido pela doença de início precoce em parto prévio, mesmo com resultado de cultura negativo e quando o resultado de cultura for desconhecido ou esta não foi realizada. Os fatores de risco considerados neste protocolo são: trabalho de parto com gestação inferior a 37 semanas, ruptura de membranas ovulares há mais de 18 horas, temperatura materna intraparto acima de 38°C e óbito neonatal anterior por sepse ou hipertensão pulmonar nas primeiras 48 horas. O protocolo adotado recomenda ainda o uso de ampicilina como antibiótico de escolha e como alternativa a penicilina G para profilaxia intraparto, a eritromicina e a clindamicina são utilizadas em casos de alérgicas e vancomicina para as cepas resistentes.

O uso de antibióticos para prevenção da sepse neonatal deve ser intraparto, pois a antibioticoterapia durante a gravidez não elimina o estado de portadora e nem previne a infecção neonatal. O antibiótico de escolha é a penicilina G. Nos casos de alergia, preconiza-se o uso de eritromicina, clindamicina ou cefazolina (Schrag et al. 2002). O antibiótico de escolha deve ser administrado após o início do trabalho de parto ou ruptura das membranas para se atingir o máximo benefício desta profilaxia (Schrag et al. 2002, Borger et al. 2005)

## 1.7 Perspectivas para o desenvolvimento de vacinas

O desenvolvimento de uma vacina específica contra o EGB representaria a solução efetiva na prevenção da infecção nos neonatos, além de minimizar o impacto da resistência bacteriana desse microrganismo e possivelmente evitar óbito fetal, prematuridade, sepse precoce e tardia relacionada ao EGB (Richtmann & Silva 2006).

A passagem dos anticorpos maternos da classe IgG através da placenta proporciona proteção imunológica do feto antes do parto. A vacinação da mulher antes ou durante a gravidez é uma proposta para a estratégia de prevenção da infecção neonatal pelo EGB (Baker & Kasper 1985).

Os anticorpos maternos específicos contra o antígeno polissacarídeo que envolve o EGB são determinantes no risco de infecção neonatal pelo patógeno, sendo esse risco inversamente proporcional à quantidade de anticorpos maternos. A proteção temporária do recém-nascido é devida às imunoglobulinas da classe IgG que, provavelmente, atravessam a barreira de transplacentária imunizando o neonato temporariamente (Lin et al. 2004). Assim, filhos de mães que possuem baixos níveis de anticorpos anti-Polissacarídeo tipo III específicos apresentam maior incidência de doença invasiva pelo EGB precoce e tardia (Baker & Kasper 1976).

Estudos clínicos, de fase 1 e 2, foram conduzidos entre mulheres saudáveis, não-grávidas, com o objetivo de avaliar uma vacina contra o EGB (Maione et al. 2005). Em um estudo para o desenvolvimento de vacina contra o patógeno em questão, analisou-se o genoma e proteínas de superfície de EGB que foram isolados e clonados, testando as proteínas de superfície como vacinas. Quatro proteínas propiciaram proteção em camundongos, e sua combinação provou ser altamente protetora contra um grande painel de estirpes, incluindo todos os sorotipos circulantes. Proteção também, correlacionada com o antígeno bacteriano acessibilidade sobre a superfície e com a indução de anticorpos. A análise dos genomas e rastreamento descritos representam uma poderosa estratégia para a

identificação de potenciais candidatos vacina contra o EGB (Maione et al. 2005).

A maioria dos estudos com vacinas contra o EGB tem avaliado conjugados compostos de polissacarídeo capsular acoplado ao toxóide tetânico. Entretanto, alguns estudos apontam que conjugados preparados com proteínas transportadoras, também são eficazes em animais (Yang et al. 2008).

## 2 JUSTIFICATIVA

O *Streptococcus do grupo B* é considerado a principal causa de corioamnionite, endometriometrite puerperal e sepse neonatal, em muitos países. A frequência e os fatores de risco para colonização de gestantes, por esse agente, variam em diferentes populações, na dependência de fatores biológicos e sócio-econômicos (Larsen & Sever 2008).

Para prevenir a sepse neonatal pelo EGB, o Centro de Controle de Doenças, no EUA preconiza, desde 2002, o rastreamento rotineiro de todas as gestantes, entre a 35 e a 37 semanas de gestação, seguida pela profilaxia antimicrobiana para as mulheres colonizadas. Essa estratégia apresentou comprovada redução na incidência de sepse neonatal precoce, nos Estados Unidos e vários países da Europa (Schrag et al. 2002).

No Brasil são os escassos os dados referentes à morbidade pela doença neonatal pelo EGB e não existe recomendação oficial do Ministério da Saúde para rastreamento do EGB em todas as gestantes. A maioria dos estudos sobre prevalência de colonização pelo EGB foi conduzida nas regiões sul e sudeste (Benchetrit et al. 1982, Pogere et al. 2005, El Beitune et al. 2006, Nomura et al. 2006). Em Goiás, não existe, até o presente momento, publicação sobre o perfil epidemiológico e microbiológico desse agente em gestantes, nem sobre a incidência da doença invasiva pelo EGB nos neonatos.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estimar a prevalência e identificar fatores associados à colonização pelo *Streptococcus* do grupo B, em gestantes em um serviço de referência materno-infantil em Goiânia. Descrever o perfil fenotípico e genotípico dos *Streptococcus* do grupo B isolados.

#### 3.2 Objetivos específicos

Estimar a prevalência de colonização, anal e vaginal, pelo EGB em mulheres, a partir da 32<sup>a</sup> semana de gestação, atendidas em um hospital público de referência Hospital Materno Infantil de Goiânia.

Identificar potenciais fatores de riscos para colonização pelo EGB, nessa população.

Determinar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Streptococcus* do grupo B isoladas.

Comparar os isolados obtidos através da técnica de *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) visando estabelecer relação genética entre os mesmos.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Delineamento**

Trata-se de um estudo de corte transversal, realizado no Hospital Materno Infantil (HMI) em Goiânia-Goiás, unidade pública estadual de saúde voltada para o atendimento da mulher e da criança. O HMI dispõe de um serviço de pré-natal de alto risco (quatro ambulatórios) com cerca de 160 pacientes atendidas por mês e dispõe, também, de um serviço de emergência obstétrica, em período integral, com atendimento de aproximadamente 1800 gestantes por mês.

### **4.2 População**

#### **4.2.1 Critérios de inclusão**

Foram convidadas a participar do estudo as pacientes com idade gestacional maior que 32 semanas, atendidas no serviço de pré-natal de alto risco do Hospital Materno Infantil, na emergência obstétrica e no pré-parto, no período de março a junho de 2009. Foram incluídas as pacientes com gestação única ou múltipla; com ou sem ruptura prematura de membranas amnióticas; com ou sem a presença de morbidades associadas (por exemplo, infecção pelo HIV, diabetes *mellitus*, hipertensão arterial, etc.) que, após serem informadas do estudo, consentiram em participar de forma voluntária, através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 2).

#### **4.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídas do estudo as gestantes que se encontravam em trabalho de parto em evolução e aquelas que relataram uso de antimicrobianos ou uso de creme vaginal nos últimos sete dias.

### 4.2.3 Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi estabelecido levando-se em conta as estimativas de prevalência de colonização pelo EGB em gestantes que variam de 15,0 a 30,0%, no Brasil. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado para detectar prevalências de 15,0%, com precisão de 5,0% e nível de confiança de 95%. Considerando 10,0% de recusas/inelegibilidade estimou-se que seria necessário convidar 216 gestantes, com previsão de amostra final de 196 gestantes. A amostragem foi de conveniência.

### 4.3 Entrevista

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), cada participante do estudo respondeu a um questionário sobre suas condições sócio-demográficas, uso de medicamentos, antecedentes obstétricos, número de parceiros sexuais em um ano anterior à gestação, ocorrência de abortamento espontâneo, presença de diabetes, hipertensão arterial, infecção pelo HIV, infecção urinária, necessidade de internação durante a gestação, história de doenças sexualmente transmissíveis, relato de natimorto e história de filho falecido com até três meses de vida (anexo 1).

### 4.4 Coleta e processamento das amostras biológicas

Foram colhidas amostras de secreção vaginal e anal das pacientes elegíveis e que aceitaram participar do estudo.

A secreção vaginal foi obtida com introdução de *swab* estéril através do intróito vaginal, sem a utilização de espéculo. A amostra foi colhida introduzindo o *swab* por cerca de dois centímetros e com movimentos giratórios por toda a circunferência da parede vaginal.

O material anorretal foi obtido com segundo *swab* estéril, com introdução

através do orifício anal para coleta de amostras da parede distal do reto. O *swab* foi introduzido por cerca de quatro centímetros com movimentos giratórios por toda a circunferência da parede do reto.

#### **4.4.1 Transporte das amostras**

Após a coleta os *swabs* foram colocados separadamente em dois tubos distintos contendo meio de transporte Stuart e transportados para o Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), onde foi realizado o isolamento e identificação do EGB.

#### **4.4.2 Isolamento e identificação**

##### **4.4.2.1 Isolamento**

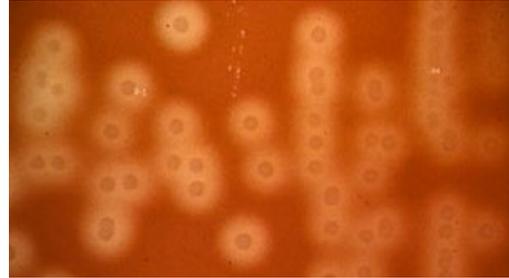
O isolamento e a identificação do EGB foram realizados no IPTSP. Os *swabs* contendo o material colhido da gestante foram inoculados separadamente no meio seletivo, caldo de Todd-Hewitt contendo gentamicina (15 µg/ml) e ácido nalidíxico (8 µg/ml), adquiridos comercialmente da Probac do Brasil. As amostras inoculadas foram incubadas a 36°C por 18 a 24 horas. Após a incubação as culturas foram semeadas em ágar sangue de carneiro 5% e incubadas a 36°C por mais 24 horas.

##### **4.4.2.2 Identificação**

As colônias delicadas, cremosas, acinzentadas, circundadas por um halo de hemólise total (beta-hemólise) (figuras 2 e 3), foram submetidas à bacterioscopia de Gram.



**FIGURA 2** – Hemólise em Ágar sangue



**FIGURA 3** – Colônias de beta-hemólise

As colônias compatíveis com cocos gram-positivos dispostos em cadeia foram testadas quanto à capacidade de produzir catalase. As colônias catalase-negativas suspeitas foram submetidas ao teste de CAMP.

#### 4.4.2.3 Teste de CAMP

O teste de CAMP é indicado para identificação presuntiva do EGB. Foi utilizado, para sua realização, o Kit hemolisinabac adquirido comercialmente da Probac do Brasil que consiste em uma placa contendo ágar sangue e ágar Todd-hewitt sangue e uma fita impregnada com *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* é produtor de beta lisina que intensifica a hemólise discreta do *S. agalactiae* (semeada perpendicularmente à fita). O teste é positivo quando ocorre a formação de uma zona clara em forma de flecha sobre a superfície da placa (Figura 4). As cepas positivas para estes testes foram consideradas *Streptococcus agalactiae*.



**FIGURA 4** – Teste de CAMP positivo.

#### 4.4.3 Suscetibilidade aos antimicrobianos

Os isolados foram submetidos ao teste de suscetibilidade *in vitro* pela técnica de disco difusão, segundo as recomendações do CLSI (CLSI 2005), aos seguintes antimicrobianos: Penicilina, Vancomicina, Eritromicina, Clindamicina, Levofloxacina e Ceftriaxona.

O inóculo foi preparado fazendo uma suspensão direta em solução fisiológica e ajustada para que a turbidez fosse compatível com a solução padrão de McFarland 0,5. Após o ajuste da suspensão, com auxílio de um swab estéril, houve a semeadura do inóculo em placa de ágar Müller-Hinton acrescido de ágar sangue e em seguida foram adicionados os discos de antibióticos a serem testados. Após a aplicação dos discos as placas foram invertidas e incubadas à temperatura de 35-37° C, sob uma atmosfera de 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). A leitura foi realizada após 18-24h segundo os critérios estabelecidos pelo CLSI (CLSI 2005), onde os isolados foram classificados em sensíveis (S), resistentes (R) ou apresentaram sensibilidade intermediária (I).

#### 4.4 Análise Genética - PFGE

Para a avaliação da diversidade genética, os isolados foram submetidos à macrorrestrição do DNA por enzima de restrição (SmaI) seguida de eletroforese em gel em campo pulsado (PFGE) segundo o protocolo de McEllistrem et al. (2000) com modificações.

Após cultivo em ágar sangue, uma colônia de cada isolado de EGB foi inoculada em 5mL de BHI (Brain Heart Infusion) e incubada a 37°C por seis horas em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. A cultura foi centrifugada a 12.000 rpm/cinco minutos a 4°C, e o sedimento suspenso em tampão PIV (10mM Tris-HCl pH 8,0; 1M NaCl), novamente centrifugado e ressuspenso em 200µL de PIV. Após a padronização da suspensão bacteriana com PIV, os plugs foram confeccionados com 100 µL da suspensão bacteriana e 100µL de agarose Low melting point (LMP) a 1,5%. Os

plugs foram incubados em tampão ES (0,5M EDTA pH 9,0; 1% sarcosyl) acrescido de Proteinase K (1mg/mL) a 50°C/17h. Os plugs foram então lavados com tampão TE 1X (10mM Tris pH 7,5; 1mM EDTA pH 8,0) por 30 minutos à temperatura ambiente. Este procedimento foi repetido cinco vezes. Um plug de cada amostra foi digerido com 20U de enzima de restrição Smal durante pelo menos seis horas. Os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose 1% por eletroforese em campo pulsado em tampão TBE 0,5X (Tris 90mM, ácido bórico 90mM e EDTA 2mM) no sistema CHEF DRII (Bio-Rad Laboratories, CA, EUA). Para a resolução dos fragmentos de restrição foi utilizada corrente alternando com intervalos de pulso de 5 a 35 segundos a 6 V/cm e temperatura de 11,3°C por 23 horas. Após a eletroforese, o gel foi corado em solução aquosa contendo GelRed (3000X) durante 10 minutos, descorado em água destilada, fotografado sob transiluminação com luz ultravioleta e capturados com o sistema Molecular Imager GelDoc XR (Bio-Rad). As fotos foram digitalizadas e para análise posterior. Foi utilizado como padrão de peso molecular Lambda DNA ladder PFGE (New England Biolabs, Ipswich, MA).

A análise do perfil dos fragmentos de macrorrestrição resultantes foi inicialmente realizada por inspeção visual segundo os critérios sistematizados por Tenover et al. (1995): (i) cepas geneticamente indistinguíveis, quando as cepas apresentaram perfil de restrição com o mesmo número de bandas e correspondência de tamanho entre elas; (ii) cepas estritamente relacionadas, quando as cepas diferiram em duas a três bandas nos perfis de restrição; (iii) cepas possivelmente relacionadas, quando as cepas diferiram em 4 a 6 bandas nos perfis de restrição e (iv) cepas não relacionadas, quando as cepas diferiram em sete ou mais bandas nos perfis de restrição.

A construção do dendrograma, para avaliar a relação genética entre as cepas foi realizada utilizando-se o coeficiente de similaridade de Dice (Dice 1945), baseado na posição e no número de bandas e no algoritmo de análise filogenética UPGMA (Unweighted Pair-Groups Method) através de agrupamentos por médias não ponderadas (Sneath and Sokal 1973). Os parâmetros de otimização e tolerância foram utilizados com os respectivos valores, 0,8 e 1,2%. Cada cluster de isolados foi

definido como um grupamento de perfis ( $n \geq 2$ ) apresentando um coeficiente de similaridade acima de 80% (Carriço et al. 2005).

#### 4. 5 Processamento e análise de dados

Os dados coletados foram armazenados em planilha eletrônica (Excel) sendo utilizado o programa *Statistical Package for the Social Sciences* versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EUA) para análise estatística.

Inicialmente foi realizada análise descritiva das principais características sócio-demográficas, características clínicas e obstétricas das participantes. Foram utilizados testes de estatística descritiva e exploratória: medidas de tendência central e dispersão para variáveis contínuas; distribuição percentual com respectivos intervalos de confiança para variáveis categóricas. Aplicou-se o teste de  $\chi^2$  para avaliar as diferenças nas distribuições de frequências e teste *t* utilizado para avaliar diferenças entre médias.

Foram calculadas as prevalências de colonização pelo EGB nos sítios vaginal e anal com respectivos intervalos de 95% de confiança (IC 95%). A razão dos produtos cruzados (OR) foi utilizada como medida de associação entre as variáveis de exposição (sócio-econômicas e obstétricas) e a presença de colonização pelo EGB.

Para identificar variáveis sócio-demográficas potencialmente preditoras da colonização pelo EGB foi criado um escore de risco. Gestantes com menos de 20 anos ou com renda familiar  $\leq 1$  salário mínimo ou de raça não branca ou com  $\leq 8$  anos de estudo foram consideradas como de risco para EGB e comparadas com aquelas que não apresentavam nenhum desses fatores. Outra avaliação foi para os fatores de risco obstétricos. Gestantes como pelo menos um dos seguintes fatores de risco: ser primigesta, história de abortamento espontâneo, história de parto prematuro, relato de ruptura prematura de membranas amnióticas em gestação anterior ou de falecimento de filho antes de três meses de idade, foram comparadas com o grupo de gestantes sem nenhum desses fatores. Foram calculadas a

sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia desses agrupamentos de variáveis para predição de colonização. O isolamento bacteriano do EGB foi considerado o padrão ouro para essa comparação.

Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

O processamento e a análise de dados foram realizados no Departamento de Saúde Coletiva do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

#### **4.6 Considerações éticas**

A presente pesquisa foi submetida à análise e aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa do HMI e, por atender às normas da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, teve parecer favorável (carta de aprovação nº 24/08). A coleta das amostras e dos dados das participantes se iniciou somente após a aprovação do projeto de pesquisa (Anexo 4).

Todas gestantes elegíveis foram orientadas sobre a pesquisa, sendo recrutadas aquelas que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, em conformidade com as normas da Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde (Anexo 2).

Esta pesquisa não implicou em qualquer risco para as participantes envolvidas e as intervenções propostas já foram validadas pelas Sociedades médicas competentes. A coleta de material para pesquisa de *Streptococcus* grupo B na vagina e no canal anal é inócua e foi realizada por profissionais habilitados.

Os resultados dos exames de cultura foram entregues para as participantes do estudo para que seu médico assistente pudesse propor as medidas profiláticas cabíveis para evitar a transmissão vertical do EGB.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características sócio-demográficas, clínicas e obstétricas

Um total de 206 gestantes, a partir da 32<sup>a</sup> semana de gestação atendidas no Hospital Materno Infantil entre 01 de março a 30 de junho de 2009, aceitou participar do presente estudo. A maioria das gestantes (74,3%) residia no município de Goiânia ou municípios do entorno e 20,4% eram procedentes de diferentes regiões do Estado de Goiás, compreendendo 34 municípios. A idade das gestantes variou de 12 a 45 anos com média de 25,4 anos (dp=6,5).

No momento da entrevista 128 gestantes (62,1%) relataram uso de algum tipo de medicamento, nos últimos sete dias, das quais oito referiram uso de antibióticos. Gestantes em uso de antimicrobianos foram excluídas da presente análise. Dessa forma, foram elegíveis 198 gestantes, do total das entrevistadas. Todas as participantes sabiam ler e escrever, sendo que 108 (56,5%) referiram mais de oito anos de estudo. Aproximadamente 60% referiram ter renda familiar mensal de até um salário mínimo e 34,4% de dois a três salários mínimos (Tabela 2). A quase totalidade das gestantes (91,4%) relatou apenas um parceiro sexual no ano anterior à gestação.

**TABELA 2** – Características sócio-demográficas de 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Idade</b>		
12-19 anos	38	19,2
20- 35 anos	145	73,2
36- 45 anos	15	7,6
<b>Município de residência <sup>a</sup></b>		
Goiânia e entorno	142	75,9
Outros municípios	45	24,1
<b>Escolaridade <sup>b</sup></b>		
≤ 8 anos	83	43,5
> 8 anos	108	56,5
<b>Renda Familiar <sup>c</sup></b>		
Até 1 salário mínimo	118	61,4
2 a 3 salários mínimos	66	34,4
Acima de 4 salários	8	4,2

Sem informação: a = 11, b = 7 e c = 6 participantes.

A tabela 3 apresenta as características obstétricas das 198 gestantes avaliadas. À época da entrevista, mais da metade gestantes (53,5%) referiu idade gestacional  $\geq$  35 semanas. Gestação gemelar foi relatada por 12 (6,2%) participantes. Observou-se que 55 (28,1%) eram primigestas, 114 (58,2%) referiam uma ou duas gravidezes e 27 (13,8%) três ou mais gesta es prévias. Excluindo as primigestas, 48 mulheres (34,0%) relataram história de abortamento espontâneo e 26 (18,7%) trabalho de parto prematuro. A ruptura prematura de membranas amnióticas foi referida por 21 (15,3%) das participantes, em alguma das gesta es prévias. A ocorrência de febre intraparto foi relatada por duas (1,5%) das gestantes. Nove (6,4%) referiram filho natimorto e oito (5,7 %) falecimento de filho antes dos três meses de vida.

**TABELA 3** – Características obstétricas de 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

<b>Gestação Atual</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Idade Gestacional</b>		
32 – 34 semanas	92	46,5
≥ 35 semanas	106	53,5
<b>Nº de Conceptos <sup>a</sup></b>		
Um	183	93,8
Gemelar	12	6,2
<b>Antecedentes Obstétricos</b>		
<b>Nº de gestações prévias <sup>b</sup></b>		
Nenhuma (Primigesta)	55	28,1
Uma a duas gestações	114	58,2
Três gestações ou mais gestações	16	8,2
Quatro a nove gestações	11	5,6
<b>Abortamento espontâneo</b>	48	34,0
<b>Parto prematuro <sup>b</sup></b>	26	18,7
<b>Ruptura prematura de membranas <sup>c</sup></b>	21	15,3
<b>Febre em parto anterior <sup>c</sup></b>	2	1,5
<b>Filho Natimorto</b>	9	6,4
<b>Filho falecido antes de três meses de vida <sup>d</sup></b>	8	5,7

Sem informação: a= 3, b=2, c=4 d= 1

A ocorrência de infecção no trato urinário foi relatada por 108 gestantes (55,1%) sendo que 53 mulheres (26,9%) referiram internação, em algum momento da gestação atual, por diferentes motivos (Tabela 4). Os principais motivos para internação, segundo as gestantes, foram: infecções no trato urinário (13 gestantes), hipertensão arterial (11 gestantes) e ameaça de parto prematuro (5 gestantes).

A investigação sobre a presença de morbidade clínica, durante a atual gestação, revelou que das 198 pacientes elegíveis para o estudo, 30 (15,9%) relataram hipertensão arterial. Ao serem questionadas sobre a presença de diabetes, oito (4,2%) afirmaram ser diabéticas. Nove gestantes (4,5%) sabiam ser

portadoras do HIV, 171 (86,4%) referiam ser soronegativas e dezoito (9,1%) não conheciam seu status sorológico. Em relação a outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), seis (3,0%) gestantes responderam que já tiveram alguma doença DST. Dessas, duas gestantes referiram infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), uma gonorréia e uma sífilis. Os dados sobre antecedentes de morbidades estão da tabela 4.

**TABELA 4** – Antecedentes de morbidades clínica em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

Variáveis	N	%
Infecção urinária na gestação atual <sup>a</sup>	108	55,1
Internação hospitalar na gestação atual <sup>b</sup>	53	26,9
Diabetes melitus <sup>c</sup>	8	4,2
Hipertensão arterial <sup>d</sup>	30	15,9
Soropositividade para HIV <sup>c</sup>	9	4,5
Antecedentes de DST <sup>a</sup>	6	3,0

Sem informação: a=2 b= 1, c= 8, d = 10

## 5.2 Prevalência e fatores associados à colonização pelo EGB

O *S. agalactiae* foi isolado em 30 das 198 pacientes, resultando em uma prevalência de 15,2 % (IC95% 10,5 - 20,9). Entre as 30 gestantes colonizadas pelo EGB, 28 (14,1%) apresentaram cultura positiva no sítio vaginal e 14 (7,1%) no sítio anal (Tabela 5).

**TABELA 5** – Prevalência de Colonização pelo EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

Sítio anatômico	Colonização pelo EGB	
	Presente	% (IC 95%)
Vaginal	28	14,1 (9,6 – 19,8)
Anal	14	7,1 (3,9 – 11,6)
Total (vaginal ou anal)	30	15,2 (10,5 – 20,9)

Em análise univariada não foi evidenciada associação, estatisticamente significativa, entre colonização por EGB e raça, escolaridade, antecedentes obstétricos, história de abortamento espontâneo, diabetes, infecção pelo HIV, hipertensão, ITU e história de internação durante a gestação (Tabelas 6 e 7). Também não houve diferença, estatisticamente significativa, entre a média de idade (24,9 anos; dp=7,4) das gestantes colonizadas em comparação com a média de idade (25,5; dp= 6,4) das não colonizadas ( $F=0,21$ ;  $p=0,65$ ). Porém, quando a idade das gestantes foi agrupada em duas faixas: adolescentes (12-19 anos) versus não adolescentes, as adolescentes apresentaram maiores índices de colonização pelo EGB ( $p=0,03$ ). Gestantes que referiram renda familiar de até um salário mínimo também apresentaram maiores percentuais de colonização pelo EGB, quando comparadas com as mulheres com renda maior renda ( $p=0,02$ ).

**TABELA 6** – Análise univariada de fatores sócio-demográficos associados com a colonização do EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

<i>Variáveis</i>	<i>EGB</i>		<i>OR (IC95%)</i>	<i>P</i>
	<i>Presente</i>	<i>Ausente</i>		
<b>Idade</b>				
12-19 anos	10	28	2,5 (0,97-6,39)	0,033*
> 20 anos	20	140		
<b>Raça<sup>a</sup></b>				
Negras	6	15	2,42 (0,75-7,54)	0,981
Não negras	24	145		
<b>Escolaridade<sup>b</sup></b>				
≤ 8 anos	15	68	1,37 (0,59-3,20)	0,430
> 8 anos	15	93		
<b>Renda</b>				
Até 1 salário	23	95	2,99 (1,08-8,67)	0,019*
> 1 salário	6	74		
<b>Sem informação:</b>				
	a=8	b=7		

**TABELA 7** – Análise univariada de fatores clínico-obstétricos associados com a colonização do EGB em 198 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

Variáveis	EGB		OR (IC95%)	P
	Presente	Ausente		
<b>Gestações Prévias <sup>c</sup></b>				
Primigestas	11	44	1,61 (0,65-3,90)	0,254
Múltiparas	19	122		
<b>Abortamento espontâneo</b>				
Sim	9	40	0,53 (0,18-1,61)	0,196
Não	21	128		
<b>Diabetes <sup>d</sup></b>				
Sim	0	8	0,00(0,00 -3,21)	0,220
Não	29	153		
<b>Sorologia HIV <sup>e</sup></b>				
Positivo	1	8	0,70 (0,03-5,92)	0,737
Negativo	26	145		
<b>Hipertensão <sup>f</sup></b>				
Sim	3	27	0,59 (0,13-2,27)	0,411
Não	25	133		
<b>ITU na gestação <sup>g</sup></b>				
Sim	14	94	0,79 (0,33-1,88)	0,558
Não	14	74		
<b>Internação na gravidez <sup>h</sup></b>				
Sim	8	45	0,99 (0,36-2,54)	0,975
Não	22	122		
<b>Parto Prematuro <sup>i</sup></b>				
Sim	2	23	0,81 (0,14-3,18)	0,749
Não	16	99		
<b>Ruptura de membranas <sup>j</sup></b>				
Sim	3	18	1,4 (0,19-4,67)	0,843
Não	15	103		
<b>Febre em parto anterior <sup>l</sup></b>				
Sim	0	2	0,0 (0,0– 36,49)	0,583
Não	18	119		
<b>Natimorto <sup>m</sup></b>				
Sim	0	9	0,0 (0,0-3,36)	0,225
Não	19	115		
<b>Filho falecido <sup>n</sup></b>				
Sim	1	8	0,0 (0,0-4,14)	
Não	18	116		

**Sem informação:**

c=2	d=8	e=18	
f=10	g=2	h=1	
i=2	j=59	l=4	m=7

Para avaliar a presença de pelo menos um fator de risco associado à colonização materna pelo EGB foi construído um escore de risco sócio-demográfico e outro relacionado aos riscos obstétricos. No escore de risco sócio-demográfico foram consideradas as variáveis: idade (< 20 anos), renda familiar (< 1 salário mínimo), raça (não branca) e escolaridade ( $\leq$  8 anos de estudo). A associação entre ter pelo menos um fator de risco e estar colonizada apresentou 96,6 % de sensibilidade, 9,5 % de especificidade, o valor preditivo positivo foi de 16,0 % e o valor preditivo negativo foi de 5,9 %, a acurácia foi de 22,7 % (tabela 8). No escore de riscos obstétricos foram associados com a colonização: número de gestações prévias, história de abortamento espontâneo, história de parto prematuro, relato de ruptura prematura de membranas amnióticas em gestação anterior e de falecimento de filho antes de três meses de idade. A sensibilidade foi de 79,3%, a especificidade foi de 35,4%, os valores preditivos positivo e negativo foram de 17,9 % e 90,6 %, respectivamente. A acurácia desta associação foi de 42,0 % (tabela 9).

**TABELA 8** – Associação entre a presença de pelo menos um fator de risco sócio-demográfico e colonização pelo EGB em gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

Presença de pelo menos um fator de risco a	Colonização EGB		Total
	Presente	Ausente	
Presente	29	152	181
Ausente	1	16	17
Total	30	168	198

a Fatores de risco = idade (< 20 anos), renda familiar (< 1 salário mínimo), raça (não branca) e escolaridade (< 8 anos de estudo).

OR (IC 95 %) = 3,05 (0,44 – 132,36) p= 0,26

Sensibilidade= 96,6 % Especificidade= 9,5 %, Acurácia= 22,7%

Valor Preditivo Positivo= 16,0 %, Valor Preditivo Negativo = 5,9 %

**TABELA 9** – Associação entre a presença de pelo menos um fator de risco obstétrico e colonização pelo EGB em gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

Presença de pelo menos a um fator de risco *	Colonização EGB		Total
	Presente	Ausente	
Presente	23	106	129
Ausente	6	58	64
Total	29	164	193

\* Fatores de risco = primigestação, história de abortamento espontâneo, história de parto prematuro, relato de ruptura prematura de membranas amnióticas em gestação anterior e de falecimento de filho antes de três meses de idade

a Sem informação = 5

OR (IC 95 %) = 2,10 (0,77 – 6,64) p= 0,12

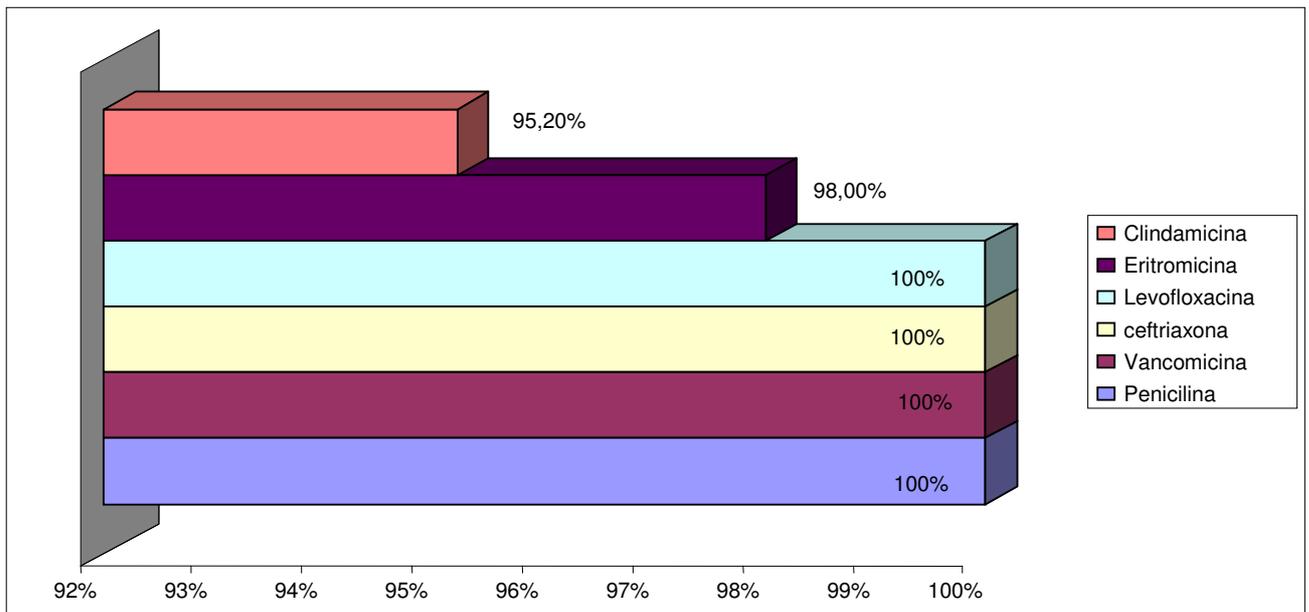
Sensibilidade= 79,3 %, Especificidade= 35,5 %, Acurácia= 42,0 %

VPP= 17,9 %, VPN= 90,6

### 5.3 Perfil fenotípico e genotípico do isolados

Trinta gestantes estavam colonizadas pelo EGB, sendo 28 com colonização vaginal, das quais 12 também estavam colonizadas na região anal e duas apenas no sítio anal, perfazendo um total de 42 amostras positivas.

O antibiograma realizado nas 42 amostras (incluindo amostras dos sítios vaginal e anal) consideradas positivas revelou que todos os isolados foram sensíveis à penicilina, vancomicina, ceftriaxona e levofloxacina. Três (7,1%) apresentaram resistência à eritromicina e dois (4,7%) foram resistentes à clindamicina. A resistência à eritromicina e à clindamicina foi concomitante em duas amostras, apresentando teste D positivo ou resistência induzível à clindamicina. A sensibilidade aos antimicrobianos testados está representada na Figura 5.

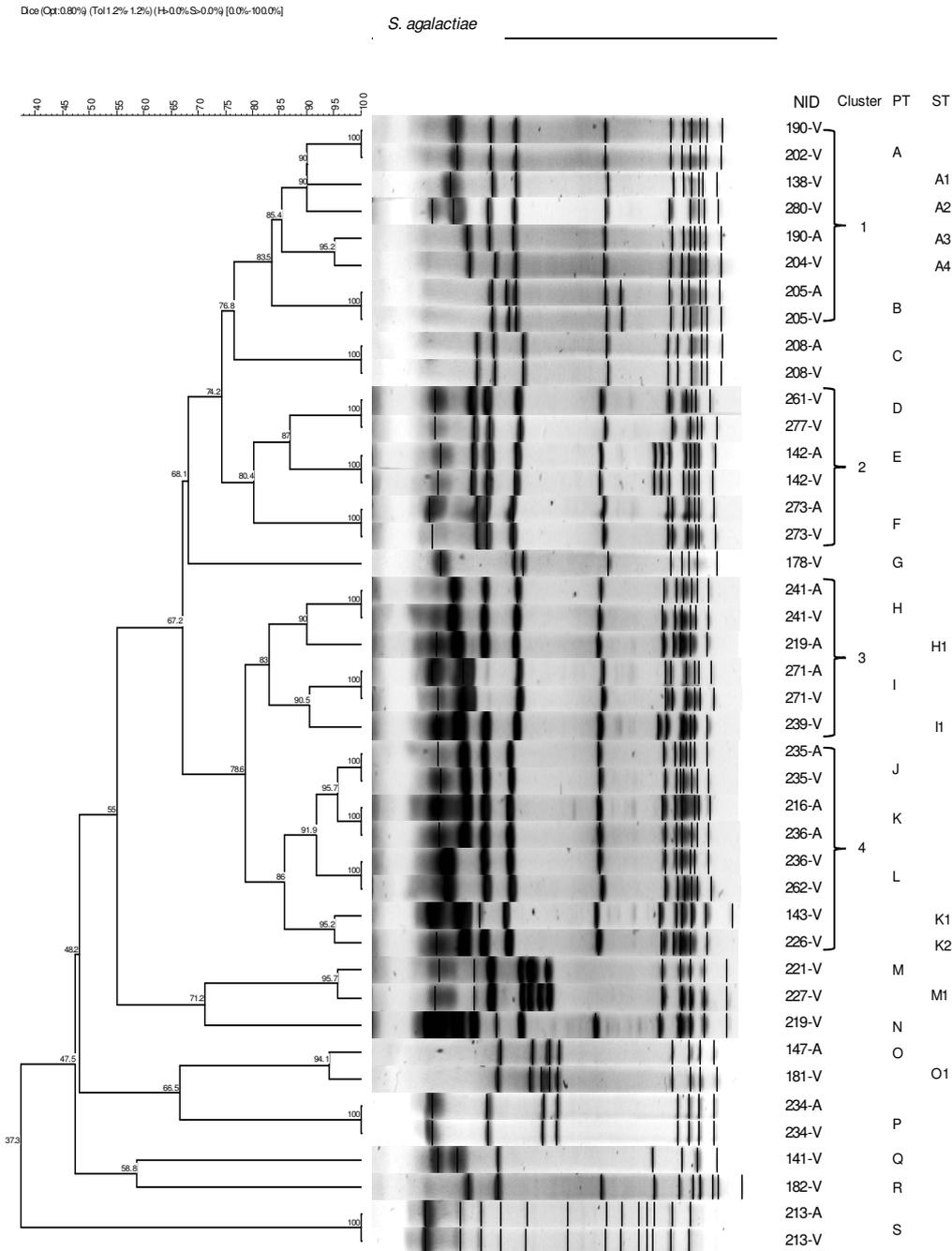


**FIGURA 5** – Perfil de Sensibilidade dos EGB isolados em 42 amostras, de 30 gestantes atendidas em serviço de saúde materno-infantil, março a julho de 2009.

A análise genética das 42 amostras positivas realizada através do PFGE revelou a existência de 19 pulsotipos (PT) diferentes (A – S) e quatro clusters (CL) (1 – 4) definidos por amostras que apresentaram similaridade  $\geq 80\%$ . O PT é definido como o mesmo perfil de similaridade. Dois clusters (1 e 4) agruparam oito cepas cada um e os clusters 2 e 3 agruparam seis cepas cada um. Quatorze cepas foram consideradas não relacionadas com estes quatro clusters.

Das 12 pacientes em que foi realizado o isolamento do EGB nos sítios anal e vaginal simultaneamente, nove apresentaram cepas geneticamente idênticas. Em duas pacientes, as cepas isoladas foram estritamente relacionadas e em uma, a análise genética revelou se tratarem de cepas diferentes, ou seja, a paciente estava colonizada por duas cepas diferentes ao mesmo tempo (Figura 6).

Observamos ainda que o mesmo perfil genético foi ocorreu em pacientes diferentes (PTs: A, K e L), demonstrando que o mesmo clusters circula entre pacientes diferentes.



**FIGURA 6** – Relação clonal de *Streptococcus agalactiae* isolados de gestantes em serviço de referência materno-infantil de Goiânia/GO, estabelecida por PFGE após digestão do DNA com enzima de restrição *Sma*I. Os clusters são designados por números, pulsotipos (PT) por letras maiúsculas e subtipos (ST) por letras e números.

A: amostra de origem anal  
V: amostra de origem vaginal

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo, a prevalência de colonização pelo EGB foi de 15,2%, em 198 gestantes atendidas no HMI de Goiânia, serviço de referência para gestação de alto-risco, da rede pública de Goiás. Foram convidadas a participar do estudo, gestantes a partir da 32<sup>a</sup> semana de gestação e não a partir da 35<sup>a</sup>, conforme recomendação do CDC para o rastreamento do EGB (Schrag et al. 2002). Embora não exista recomendação oficial no Brasil, o Projeto Diretrizes da Associação Médica Brasileira sugere a realização de cultura para EGB, no terceiro trimestre gestacional, apenas se houver fatores de risco (Amaral 2005).

A opção de iniciar o rastreamento em idade gestacional mais precoce, no presente estudo, teve como justificativa o perfil clínico - obstétrico da clientela desse serviço de referência. Uma parcela significativa das gestantes cadastradas nessa unidade de saúde tem antecedente de parto prematuro ou ruptura prematura de membranas, em gestações prévias. Portanto, a detecção da colonização pelo EGB, nas mulheres com idade gestacional a partir de 32<sup>a</sup> semana possibilitaria a adoção da profilaxia antimicrobiana baseada em resultados de cultura. De forma semelhante, estudo realizado em Hospital Escola no Rio de Janeiro, incluiu gestantes entre a 32<sup>o</sup> e a 41<sup>a</sup> semanas de gestação (Borger et al. 2005). A questão relevante, em relação à época do rastreamento, é qual o significado da detecção desse agente, no início do terceiro trimestre. Sabe-se que a colonização pelo EGB pode ser intermitente e o risco de sepse neonatal está associado com a presença desse agente, no momento do parto. Gestantes no início da gravidez não colonizadas podem apresentar cultura positiva no último trimestre de gestação, bem como, quando a colonização é diagnosticada precocemente, podem ser submetidas ao tratamento e novamente se re-colonizarem no final da gravidez (Regan et al. 1991).

Na literatura científica, as estimativas de prevalência de colonização pelo EGB em gestantes, variam largamente, desde 2,0 a quase 40%, em diferentes estudos, provavelmente na dependência de fatores sócio-demográficos e obstétricos

da população estudada, do sítio anatômico pesquisado e das técnicas bacteriológicas de isolamento utilizadas (Barcaite et al. 2008, de Steenwinkel et al. 2008). Estimativas similares às encontradas no presente estudo foram descritas em estudos realizados em vários países da América do Norte e da Europa (Regan et al. 1991, Barcaite et al. 2008).

Um estudo de revisão sobre a prevalência de colonização pelo EGB, em gestantes no México, analisou nove estudos, perfazendo um total de 2.942 gestantes investigadas. A prevalência de colonização, nessa revisão foi de 9,5% (Figuerola et al. 2007). Nos Estados Unidos, estudo conduzido em uma população de 7.742 mulheres, entre 23-26 semanas de gestação, encontrou uma prevalência de 18,6% para a colonização pelo EGB, sendo mais frequente entre hispânicas e negras. Demonstrou ainda, maior taxa de ocorrência em mulheres mais idosas, de baixa paridade, sem parceiro fixo e com baixa escolaridade (Regan et al. 1991). Em uma revisão sistemática, sobre a prevalência de EGB na Europa, foram analisados 21 estudos, englobando 24.093 mulheres de 13 países, com taxas de colonização EGB variando de 6,5 a 36,0%, sendo que em um terço dos estudos o percentual de colonização foi igual ou superior a 20% (Barcaite et al. 2008).

No Brasil, os primeiros estudos sobre a colonização pelo EGB em gestantes, foram realizados no Sul, na década de 1980 e encontraram prevalências de aproximadamente 25% de gestantes colonizadas (Benchetrit et al. 1982, Smânia Júnior et al. 1986). De forma similar aos resultados do presente estudo, pesquisas conduzidas predominantemente em hospitais-escola das regiões sul e sudeste do Brasil, descrevem percentuais de colonização pelo EGB em gestantes, variando de 15 a 20% (Mocelin et al. 1995, Dias 2003, Beraldo et al. 2004, Borger et al. 2005, El Beitune et al. 2006, Zusman et al. 2006, Simões et al. 2007, Caetano 2008). Mocelin et al. (1995) estimaram em 15% a prevalência de colonização pelo EGB em 100 gestantes atendidas em Hospital Universitário de Londrina. Prevalência similar de colonização foi evidenciada em gestantes atendidas na rede pública de Uberaba em Minas Gerais Pogere et. al (2004) avaliaram 273 gestantes atendidas em um Hospital Universitário de Santa Catarina e detectaram uma prevalência de colonização pelo EGB de 21,6%. No Rio de Janeiro, Borger et al. (2005) relatam

índices de colonização pelo EGB em 19,2% de 167 gestantes atendidas em uma maternidade escola. Percentuais mais altos de colonização (27,6%) foram descritos por Nomura et al. (2006), em estudo com gestantes em trabalho de parto e portadoras de fatores de risco obstétricos, em São Paulo. Na região centro-oeste, até o presente momento apenas dois estudos foram publicados. No estudo conduzido em Brasília, há mais de duas décadas, foram encontradas as menores prevalências entre os estudos brasileiros, com apenas 4,0% de gestantes colonizadas pelo EGB (Rocha et al. 1984). Em contrapartida, as maiores prevalências no Brasil foram descritas no estudo conduzido em Cuiabá, no qual mais de 30% das gestantes estavam colonizadas pelo EGB (Darian et al. 2008).

Embora a literatura científica sugira um maior risco de colonização pelo EGB em diabética (Ramos et al. 1997), o presente estudo não detectou diferenças significativas no percentual de colonização por EGB entre as gestantes diabéticas e as não diabéticas. De forma semelhante, estudo conduzido no Rio de Janeiro (Borger, 2005) também não evidenciou essa associação. Cabe ressaltar que o número de gestantes diabéticas, tanto no nosso estudo, quanto no de Borges foi relativamente pequeno, e talvez insuficiente para detectar essa diferença. Na nossa casuística, gestantes HIV positivas também não apresentaram percentuais maiores de colonização pelo EGB, em consonância com estudo realizado em Campinas – São Paulo, entre 2002 e 2003 (El Beitune et al. 2006).

Considerando que 15% das gestantes estão colonizadas pelo EGB, é possível estimar que exista um contingente significativo de recém-nascidos expostos à esse agente. Esses recém-nascidos apresentam risco aumentado de desenvolver sepse neonatal, caso não seja instituída antibioticoprofilaxia, para as gestantes colonizadas. Estudo publicado em 1990 mostrou que programas de rastreamento universal são custo-efetivos quando as taxas de colonização materna superam os 10% (Strickland et al. 1990).

Características sócio-demográficas, comportamento sexual e antecedentes obstétricos foram amplamente investigados, na literatura científica, como fatores potencialmente associados com risco de colonização pelo EGB em gestante. Na

maioria das vezes, os resultados obtidos não são concordantes, sugerindo uma grande variação de fatores, provavelmente relacionados a questões metodológicas. No presente estudo, baixa renda e idade inferior a 20 anos foram as únicas variáveis associadas com maior risco de colonização pelo EGB. Estudo conduzido em Campinas- São Paulo, encontrou que a raça branca e a baixa escolaridade foram fatores associados à maior colonização das gestantes (Nomura et al. 2006). Em contrapartida, nos Estados Unidos, estudo publicado no início da década de 90, evidenciou maior frequência de colonização entre hispânicas e negras. Demonstrou ainda, maior taxa de ocorrência em mulheres mais idosas, de baixa paridade, sem parceiro fixo e com baixa escolaridade. Entretanto, os autores concluíram que não era possível selecionar um grupo de mulheres com alta probabilidade de estarem colonizadas, considerando as características sócio-demográficas e obstétricas (Regan et al. 1991).

No presente estudo, de forma similar ao resultado obtido em uma maternidade escola de Jundiaí-MG (Simões et al. 2007), não foi encontrada associação entre antecedentes obstétricos e colonização pelo EGB. A presença de pelo menos um fator de risco, potencialmente, associado à colonização materna pelo EGB, não teve bom desempenho para identificar as gestantes colonizadas, apresentado baixos valores preditivos positivos e negativos. Assim, se a decisão de oferecer a quimioprofilaxia intraparto fosse baseada apenas na presença ou não dos fatores de risco muitas gestantes receberiam a intervenção, sem, contudo serem portadoras do EGB e outras, que mesmo na ausência de algum fator de risco, poderiam estar colonizadas e privadas do tratamento, o que enfatiza a necessidade da utilização de cultura para a detecção de gestantes portadoras do EGB. De acordo com as características obstétricas e principalmente com as características sócio-demográficas das pacientes cadastradas nessa unidade de saúde, quase todas as gestantes teriam pelo menos um critério para profilaxia.

Os nossos resultados estão em concordância com as estratégias propostas pelo CDC em 2002 que recomenda o rastreamento através da cultura de material colhido da região vaginal e retal para todas as gestantes com idade gestacional entre 35 e 37 semanas (Schrag et al. 2002). Em 1996, antes do rastreamento

bacteriológica o CDC recomendava o rastreamento baseada nos fatores de risco e a realização de cultura apenas para as gestantes portadoras de algum desses fatores (CDC,1996). Após a mudança no protocolo de rastreamento das gestantes, houve uma drástica redução nos casos de sepse neonatal nos Estados Unidos (Schrag et al. 2002).

A detecção de grávidas colonizadas pelo EGB no último trimestre de gestação se faz importante para propor medidas de prevenção e controle da transmissão vertical para o RN. A cultura das secreções vaginal e retal para o isolamento do agente é considerada o padrão-ouro para a detecção do agente. A coleta de amostras para cultura nos sítios anatômicos (vaginal e anal) e utilização de meios seletivos aumenta a sensibilidade do método e influencia nas taxas de colonização (Rocha et al. 1984, Simões et al. 2007). No presente estudo, a identificação do EGB em amostras de sitio vaginal foi duas vezes maior que no sitio anal. Metade das gestantes colonizadas não teria sido identificada se as amostras tivessem sido colhidas apenas do sitio anal. Em contrapartida, menos de 10% das gestantes estavam colonizadas apenas no sitio anal. De acordo com outros estudos brasileiros, a dupla testagem (vaginal e anal) aumenta a detecção de mulheres colonizadas (Beraldo et al. 2004, Simões et al. 2007).

Nos últimos 15 anos, as recomendações internacionais, baseadas nos manuais do CDC, indicam a penicilina como droga de escolha para a profilaxia antimicrobiana das gestantes colonizadas pelo EBG. No presente estudo, todos os isolados eram sensíveis à penicilina, de forma semelhante ao descrito em outros estudos conduzidos no Brasil, nos últimos anos (Borger et al. 2005, Simões et al. 2007, Costa et al. 2008). Os protocolos nacionais e internacionais recomendam o uso da eritromicina e clindamicina para as gestantes alérgicas à penicilina. Na nossa casuística o percentual de resistência a essas drogas foi menor que 10%, similar aos percentuais descritos no Rio de Janeiro e em Jundiaí (Borger et al. 2005, Simões et al. 2007). Em contrapartida, em dois outros estudos (Simões et al. 2007, Costa et al. 2008) quase 25% dos isolados eram resistentes à clindamicina ou eritromicina, indicando a necessidade de testes de suscetibilidade para orientar a escolha do antimicrobiano, para gestantes alérgicas à penicilina.

Os resultados da análise genotípica das 42 cepas de EGB isoladas revelaram uma grande diversidade genética do microrganismo com 19 pulsotipos e quatro clusters. Até o presente, poucos estudos foram conduzidos no Brasil, para avaliação da diversidade genética do EGB em gestantes, utilizando a metodologia de PFGE. De forma similar aos resultados encontrados no presente estudo, uma ampla diversidade genética também foi detectada em estudos que utilizaram a mesma metodologia (PFGE) em outros estudos (Oliveira et al. 2005, Correa et al. 2009). Análise pelo PFGE de 103 cepas de EGB provenientes de várias regiões do país, coletadas nos últimos 25 anos, também evidenciou uma grande variedade genética de EGB com 54 perfis, organizados em 18 padrões. Em continuação ao estudo de Oliveira et al (2005), foram analisadas 45 cepas de EGB do tipo Ia, sendo descritos 34 perfis eletroforéticos pertencentes a oito grupos e 24 clusters.

No México Rojo et al. (2008) identificaram 37 padrões de PFGE diferentes em 58 cepas EGB isoladas provenientes de mulheres grávidas e de recém-nascidos com sepse e meningite, destes 37 padrões 9 eram idênticos. (Ramawamy et al. 2006), examinaram 92 cepas de EGB obtidas em vários países dos Estados Unidos entre 1993 e 2002 e relataram 21 perfis de DNA, 10 clusters provenientes de 2 em 44 isolados. A ampla variedade genética do EGB por nós relatada e também detectada por outros autores ressalta a importância em se conhecer os subtipos de EGB circulantes em nosso país.

O *S. agalactiae* apresenta alta diversidade genética, onde vários tipos podem ser identificados dentro de um mesmo sorotipo (Gherardi et al. 2007, Pillai et al. 2009). Outros autores também encontraram alta diversidade genética entre isolados obtidos de gestantes que não apresentavam fatores de risco para a colonização por EGB e entre mães colonizadas e seus filhos com sintomas clínicos da infecção por *S. agalactiae* (Rojo et al. 2008, van der Mee-Marquet et al. 2009).

Pillai et al. (2009) analisando 872 isolados provenientes de 152 pessoas saudáveis encontraram o mesmo perfil genético no mesmo indivíduo e perfis diferentes dentro do mesmo sorotipo entre indivíduos diferentes. Já von Both et al. (2008)

encontraram maior similaridade entre cepas invasivas provenientes de infecções neonatais na Alemanha.

Dentre as limitações do presente estudo, destaca-se o processo de amostragem por conveniência. Soma-se ao fato que as participantes foram recrutadas em serviço de referência para gestantes de alto-risco, o que poderia implicar em viés de seleção devido às características da instituição. Apesar da facilidade e praticidade em recrutar essas gestantes, essa amostra talvez não seja representativa, da população de gestantes de Goiás. Os resultados sobre a prevalência de colonização precisam ser analisados com cuidados antes de serem expendidos para as gestantes em outros contextos. Cabe ressaltar que a quase totalidade dos estudos brasileiros sobre colonização pelo EGB, em gestantes foram conduzidos em amostras de conveniência em unidades especializadas ou maternidades escola (Borger et al. 2005, El Beitune et al. 2006, Simões et al. 2007, Costa et al. 2008). Outra limitação se refere ao poder da amostra utilizada para identificar fatores de risco para colonização pelo EGB, possivelmente seria necessária uma amostra maior de gestantes para detectar diferenças menores de risco, neste grupo.

## 7 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A prevalência de colonização por EGB, em gestantes no terceiro trimestre de gestação, em uma unidade de atendimento para gestantes de alto-risco, em Goiânia-Goiás foi de 15,2%.

Fatores sócio-demográficos e antecedentes obstétricos não foram bons preditores de colonização pelo EGB. A baixa acurácia dos parâmetros de marcadores sócio-demográficos e obstétricos reforça a necessidade de rastrear todas gestantes, do terceiro trimestre através de exames de cultura.

O teste de suscetibilidade revelou que todos os isolados eram sensíveis à penicilina, indicando que esta droga continua como a primeira opção para a quimioprofilaxia intraparto. Em casos de mulheres com antecedentes de alergia à penicilina, a eritromicina e a clindamicina continuam sendo a droga de escolha, pois apresentaram baixos índices de resistência na população estudada.

A análise do perfil genético demonstrou uma grande variabilidade do EGB, em gestantes. Observou-se a circulação de um mesmo cluster em pacientes diferentes, bem como a colonização simultânea por dois subtipos de EGB, em uma mesma gestante.

Enfatiza-se a necessidade do rastreamento universal para o EGB entre as gestantes do terceiro trimestre.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acikgoz Z. C., Almayanlar E., Gamberzade S., Gocer S. 2004. Macrolide resistance determinants of invasive and noninvasive group B streptococci in a Turkish hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 1410-1412.

Amaral E. 2005. Estreptococo do grupo B: rastrear ou não rastrear no Brasil? Eis a questão. *Rev Bras Ginecol Obstet* 27: 165-167.

Ancona R. J., Ferrieri P., Williams P. P. 1980. Maternal factors that enhance the acquisition of group-B streptococci by newborn infants. *J Med Microbiol* 13: 273-280.

Baker C. J., Kasper D. L. 1976. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. *N Engl J Med* 294: 753-756.

Baker C. J., Kasper D. L. 1985. Group B streptococcal vaccines. *Rev Infect Dis* 7: 458-467.

Baker C. J., Morven E. 1995. Group B streptococcal infections. In: Remington JS, Klein JO, editors. In *Infectious disease of the fetus and newborn infant*. WB Saunders, Philadelphia. p. 980-1054.

Barcaite E., Bartusevicius A., Tameliene R., Kliucinskas M., Maleckiene L., Nadisauskiene R. 2008. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries. *Acta Obstet Gynecol Scand* 87: 260-271.

Benchetrit L. C., Fracalanza S. E., Peregrino H., Camelo A. A., Sanches L. A. 1982. Carriage of *Streptococcus agalactiae* in women and neonates and distribution of serological types: a study in Brazil. *J Clin Microbiol* 15: 787-790.

Benson J. A., Ferrieri P. 2001. Rapid pulsed-field gel electrophoresis method for group B streptococcus isolates. *J Clin Microbiol* 39: 3006-3008.

Beraldo C., Brito A. S. J., Saridakis H. O., Mitsou T. 2004. Prevalência da Colonização Vaginal e Anorretal por Estreptococo do Grupo B em Gestantes do Terceiro Trimestre. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 26: 543-549.

Betriu C., Culebras E., Rodriguez-Avial I., Gomez M., Sanchez B. a., Picazo J. 2001. Increasing Incidence of Erythromycin Resistance in Streptococcus agalactiae: Mechanisms of Resistance. *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy III*:

Bohnsack J. F., Whiting A. A., Martinez G., Jones N., Adderson E. E., Detrick S., Blaschke-Bonkowsky A. J., Bisharat N., Gottschalk M. 2004. Serotype III Streptococcus agalactiae from bovine milk and human neonatal infections. *Emerg Infect Dis* 10: 1412-1419.

Borger I. L., Castro A. C., dOliveira R. E. C., Mondino S. S. B. 2005. Streptococcus agalactiae em gestantes prevalência de colonização e avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos. 2005

Brian M. M., Rodney G. B. 1996. Group B streptococcus and pregnancy pediatric annals. 206-214.

Bromberger P., Lawrence J. M., Braun D., Saunders B., Contreras R., Petitti D. B. 2000. The influence of intrapartum antibiotics on the clinical spectrum of early-onset group B streptococcal infection in term infants. *Pediatrics* 106: 244-250.

Caetano M. S. S. G. 2008. *Colonização pelo Streptococcus agalactiae (EGB) em gestantes atendidas na rede pública de Uberaba-MG*. Mestrado. Universidade Federal do Triângulo Mineiro: pp.

Castellano-Filho D. S., Tibiriçá S. H. C., Diniz C. G. 2008. Doença perinatal associada aos Estreptococos do Grupo B: aspectos clínico-microbiológicos e prevenção. *HU Revista* 34: 127-134.

CLSI 2005. Methods for dilution antimicrobialsusceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standards. *Document CLSI M45-P CLSI*: Wayne, Pennsylvania.

Correa A. B., de Oliveira I. C., Pinto Tde C., de Mattos M. C., Benchetrit L. C. 2009. Pulsed-field gel electrophoresis, virulence determinants and antimicrobial susceptibility profiles of type Ia group B streptococci isolated from humans in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 599-603.

Costa A. L., Lamy Filho F., Chein M. B., Brito L. M., Lamy Z. C., Andrade K. L. 2008. [Prevalence of colonization by group B Streptococcus in pregnant women from a public maternity of Northwest region of Brazil]. *Rev Bras Ginecol Obstet* 30: 274-280.

Darian C. M., Paula C. C., de Vieira J. J. 2008. Prevalência de Streptococcus do grupo B em mulheres gestantes em Cuiabá-MT. *LAES & HAES* 172: 98-104.

de Azavedo J. C., McGavin M., Duncan C., Low D. E., McGeer A. 2001. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in invasive and noninvasive group B streptococcus isolates from Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 3504-3508.

de Steenwinkel F. D., Tak H. V., Muller A. E., Nouwen J. L., Oostvogel P. M., Mocumbi S. M. 2008. Low carriage rate of group B streptococcus in pregnant women in Maputo, Mozambique. *Trop Med Int Health* 13: 427-429.

Dias K. R. 2003. *Pesquisa de Streptococcus Agalactiae em gestantes residentes em Belém-Pará*. [Dissertação de mestrado]. Universidade Federal do Pará: Belém. pp.

Dillon H. C., Jr., Gray E., Pass M. A., Gray B. M. 1982. Anorectal and vaginal carriage of group B streptococci during pregnancy. *J Infect Dis* 145: 794-799.

Edwards M. S. 2006. Issues of antimicrobial resistance in group B streptococcus in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *Semin Pediatr Infect Dis* 17: 149-152.

El Beitune P., Duarte G., Maffei C. M., Quintana S. M., De Sa Rosa E. S. A. C., Nogueira A. A. 2006. Group B Streptococcus carriers among HIV-1 infected pregnant women: prevalence and risk factors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 128: 54-58.

Facklam R. 2002. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 15: 613-630.

Feigin R., Cherry J. 1998. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 4th ed. W.B.Saunders Company, Philadelphia, pp.

Feikin D. R., Thorsen P., Zywicki S., Arpi M., Westergaard J. G., Schuchat A. 2001. Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women. *Am J Obstet Gynecol* 184: 427-433.

Figueroa R. J., Ibarra F. J. O., Jaramillo A. E., Román G. C. 2007. Maternal B group Streptococcus colonization in México: prevalence based on literature review. *Ginecol Obstet Mex* 75: 399-403.

Fitoussi F., Loukil C., Gros I., Clermont O., Mariani P., Bonacorsi S., Le Thomas I., Deforche D., Bingen E. 2001. Mechanisms of macrolide resistance in clinical group B streptococci isolated in France. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1889-1891.

Franciosi R. A., Knostman J. D., Zimmerman R. A. 1973. Group B streptococcal neonatal and infant infections. *J Pediatr* 82: 707-718.

Galask R. P., Varner M. W., Petzold C. R., Wilbur S. L. 1984. Bacterial attachment to the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 148: 915-928.

Garland S. M., Fliegner J. R. 1991. Group B streptococcus (GBS) and neonatal infections: the case for intrapartum chemoprophylaxis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 31: 119-122.

Gherardi G., Imperi M., Baldassarri L., Pataracchia M., Alfarone G., Recchia S., Orefici G., Dicuonzo G., Creti R. 2007. Molecular epidemiology and distribution of serotypes, surface proteins, and antibiotic resistance among group B streptococci in Italy. *J Clin Microbiol* 45: 2909-2916.

Gilbert R. 2004. Prenatal screening for group B streptococcal infection: gaps in the evidence. *Int J Epidemiol* 33: 2-8.

Gosling I. A., Stone P. R., Grimwood K. 2002. Early-onset group B streptococcus prevention protocols in New Zealand public hospitals. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 42: 362-364.

Grassi M. S., Diniz E. M. A., Vaz F. A. 2001. Métodos laboratoriais para diagnóstico da infecção neonatal precoce pelo Streptococcus beta hemolítico do grupo B. *Pediatria* 23: 232-240.

Hardie J. M., Whiley R. A. 1997. Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 26: 1S-11S.

Honest H., Sharma S., Khan K. S. 2006. Rapid tests for group B Streptococcus colonization in laboring women: a systematic review. *Pediatrics* 117: 1055-1066.

Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A. 1995. Microbiologia médica. In Guanabara koogan, Rio de Janeiro. p. 154.

Katz V. L. 1993. Management of group B streptococcal disease in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 36: 832-842.

Koneman E. W., Allen S. D., Janda W. M., Schereckenberger P. C., Winn W. C. 2008. Diagnóstico Microbiológico. In Guanabara Koogan, p. 666-758.

Lachenauer C. S., Kasper D. L., Shimada J., Ichiman Y., Ohtsuka H., Kaku M., Paoletti L. C., Ferrieri P., Madoff L. C. 1999. Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J Infect Dis* 179: 1030-1033.

Lancefield R. C. 1933. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *The Journal of Experimental Medicine* 4: 571-595.

Lancefield R. C. 1934. A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic streptococci (Group B). *The Journal of Experimental Medicine* 59: 441-458.

Larsen J. W., Sever J. L. 2008. Group B Streptococcus and pregnancy: a review. *Am J Obstet Gynecol* 198: 440-448; discussion 448-450.

Lin F. Y., Weisman L. E., Azimi P. H., Philips J. B., 3rd, Clark P., Regan J., Rhoads G. G., Frasch C. E., Gray B. M., Troendle J., Brenner R. A., Moyer P., Clemens J. D. 2004. Level of maternal IgG anti-group B streptococcus type III antibody correlated with protection of neonates against early-onset disease caused by this pathogen. *J Infect Dis* 190: 928-934.

Maione D., Margarit I., Rinaudo C. D., Massignani V., Mora M., Scarselli M., Tettelin H., Brettoni C., Iacobini E. T., Rosini R., D'Agostino N., Miorin L., Buccato S., Mariani M., Galli G., Nogarotto R., Nardi Dei V., Vegni F., Fraser C., Mancuso G., Teti G., Madoff L. C., Paoletti L. C., Rappuoli R., Kasper D. L., Telford J. L., Grandi G. 2005. Identification of a universal Group B streptococcus vaccine by multiple genome screen. *Science* 309: 148-150.

Martinez G., Harel J., Higgins R., Lacouture S., Daignault D., Gottschalk M. 2000. Characterization of Streptococcus agalactiae isolates of bovine and human origin by randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J Clin Microbiol* 38: 71-78.

McCracken G. H., Jr. 1973. Group B streptococci: the new challenge in neonatal infections. *J Pediatr* 82: 703-706.

Mocelin C. O., Carvalho D. A. F., Brites C., Christofolli D., Mocelin A. O., Fracalanza S. E. L. e. a. 1995. Isolamento de *Streptococcus agalactiae* de gestantes na região Londrina-PR. *Rev Bras Ginecol Obstet* 17: 915-918.

Moller M., Thomsen A. C., Borch K., Dinesen K., Zdravkovic M. 1984. Rupture of fetal membranes and premature delivery associated with group B streptococci in urine of pregnant women. *Lancet* 2: 69-70.

Nomura M. L., Passini Junior R., Oliveira U. M. 2006. Selective versus non-selective culture medium for group B streptococcus detection in pregnancies complicated by preterm labor or preterm-premature rupture of membranes. *Braz J Infect Dis* 10: 247-250.

Oliveira I. C., De Mattos M. C., Areal M. F., Ferreira-Carvalho B. T., Figueiredo A. M., Benchetrit L. C. 2005. Pulsed-field gel electrophoresis of human group B streptococci isolated in Brazil. *J Chemother* 17: 258-263.

Paredes A., Wong P., Mason E. O., Jr., Taber L. H., Barrett F. F. 1977. Nosocomial transmission of group B Streptococci in a newborn nursery. *Pediatrics* 59: 679-682.

Payne N. R., Burke B. A., Day D. L., Christenson P. D., Thompson T. R., Ferrieri P. 1988. Correlation of clinical and pathologic findings in early onset neonatal group B streptococcal infection with disease severity and prediction of outcome. *Pediatr Infect Dis J* 7: 836-847.

Perroni A. G., Bittar R. E., Fonseca E. S. B., Messina M. L., Marra K. C., Zugaib M. 1999. Prematuridade eletiva: aspectos obstétricos e perinatais. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 10: 67-71.

Pillai P., Srinivasan U., Zhang L., Borchardt S. M., Debusscher J., Marrs C. F., Foxman B. 2009. Streptococcus agalactiae pulsed-field gel electrophoresis patterns cross capsular types. *Epidemiol Infect* 137: 1420-1425.

Pinheiro R. S., Ferreira L. C. L., Brum I. R., Guilherme J. P., Monte R. L. 2007. Estudo dos fatores de risco maternos associados à sepse neonatal precoce em hospital terciário da Amazônia brasileira. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 29:

Pogere A., Zoccoli C. M., Tobouti N. R., Freitas P. F., d'Acampora A. J., Zunino J. N. 2005. Prevalência da Colonização pelo Estreptococo do grupo B em Gestantes atendidas em Ambulatório Pré-Natal. *Rev Bras Ginecol Obst.* 27(4);174-80 27: 174-180.

Poyart C., Jardy L., Quesne G., Berche P., Trieu-Cuot P. 2003. Genetic basis of antibiotic resistance in Streptococcus agalactiae strains isolated in a French hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 794-797.

Quentin R., Huet H., Wang F. S., Geslin P., Goudeau A., Selander R. K. 1995. Characterization of Streptococcus agalactiae strains by multilocus enzyme genotype and serotype: identification of multiple virulent clone families that cause invasive neonatal disease. *J Clin Microbiol* 33: 2576-2581.

Ramaswamy S. V., Ferrieri P., Flores A. E., Paoletti L. C. 2006. Molecular characterization of nontypeable group B streptococcus. *J Clin Microbiol* 44: 2398-2403.

Ramos E., Gaudier F. L., Hearing L. R., Del Valle G. O., Jenkins S., Briones D. 1997. Group B streptococcus colonization in pregnant diabetic women. *Obstet Gynecol* 89: 257-260.

Regan J. A., Klebanoff M. A., Nugent R. P. 1991. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Obstet Gynecol* 77: 604-610.

Richtmann R., Silva L. J. 2006. Vacinas em desenvolvimento: estreptococo do grupo B, herpes-zóster, HIV, malária e dengue. *Jornal de Pediatria Porto Alegre* 82: supl.0.

Rocha M. F. L., Betrame L. M. R., Guedes S. C. 1984. Prevalência de Streptococcus agalactiae na flora vaginal de gestantes do último trimestre. *Revista Brasileira de Patologia Clínica* 20: 110-112.

Royo P., Araya P., Martinez T. M., Hormazabal J. C., Maldonado A., Fernandez J. 2008. [Molecular characterization of Chilean isolates of streptococcus agalactiae]. *Rev Med Chil* 136: 606-612.

Schrag S., Gorwitz R., Fultz-Butts K., Schuchat A. 2002. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep* 51: 1-22.

Schrag S. J., Zywicki S., Farley M. M., Reingold A. L., Harrison L. H., Lefkowitz L. B., Hadler J. L., Danila R., Cieslak P. R., Schuchat A. 2000. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med* 342: 15-20.

Schuchat A. 1998. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev* 11: 497-513.

Schuchat A., Roome A., Zell E. R., Linardos H., Zywicki S., O'Brien K. L. 2002. Integrated monitoring of a new group B streptococcal disease prevention program and other perinatal infections. *Matern Child Health J* 6: 107-114.

Schuchat A., Zywicki S. S., Dinsmoor M. J., Mercer B., Romaguera J., O'Sullivan M. J., Patel D., Peters M. T., Stoll B., Levine O. S. 2000. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. *Pediatrics* 105: 21-26.

Silveira J. L. S., Fiori R. M. 2004. Prevenção da Infecção de Início Precoce Pelo Estreptococo do Grupo B em Recém-Nascidos. In *Scientia Médica*. PUCRS, Porto Alegre. p.

Simões J. A., Alves V. M., Fracalanza S. E., de Camargo R. P., Mathias L., Milanez H. M., Brolazo E. M. 2007. Phenotypical characteristics of group B streptococcus in parturients. *Braz J Infect Dis* 11: 261-266.

Singer R. S., Sicho W. M., Carpenter T. E. 2004. Exploration of biases that affect the interpretation of restriction fragment patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 42: 5502-5511.

Smânia Júnior A., Benchetrit L. C., Smânia E. F. A., Fracalanza S. E. L. 1986. Isolamento de estreptococos do grupo B, de gestantes e neonatos, em Florianópolis, Santa Catarina. *Rev Bras Anal Clin* 18: 103-108.

Strickland D. M., Yeomans E. R., Hankins G. D. 1990. Cost-effectiveness of intrapartum screening and treatment for maternal group B streptococci colonization. *Am J Obstet Gynecol* 163: 4-8.

Teixeira L. M., Duarte R. S., Trabulsi L. R. 2004. Streptococcus agalctiae. In LR Trabulsi, F Alterthum, *Microbiologia*. Atheneu, São Paulo. p. 195-196.

Turow J., Spitzer A. R. 2000. Group B streptococcal infection early onset disease controversies in prevention guidelines, and management strategies for the neonate. *Clin Pediatr (Phila)* 39: 317-326.

Vaciloto E., Richtmann R., de Paula Fiod Costa H., Kusano E. J., de Almeida M. F., Amaro E. R. 2002. A survey of the incidence of neonatal sepsis by group B Streptococcus during a decade in a Brazilian maternity hospital. *Braz J Infect Dis* 6: 55-62.

van der Mee-Marquet N., Jouannet C., Domelier A. S., Arnault L., Lartigue M. F., Quentin R. 2009. Genetic diversity of *Streptococcus agalactiae* strains and density of vaginal carriage. *J Med Microbiol* 58: 169-173.

von Both U., Ruess M., Mueller U., Fluegge K., Sander A., Berner R. 2003. A serotype V clone is predominant among erythromycin-resistant *Streptococcus agalactiae* isolates in a southwestern region of Germany. *J Clin Microbiol* 41: 2166-2169.

Wilkinson H. W. 1977. CAMP-disk test for presumptive identification of group B streptococci. *J Clin Microbiol* 6: 42-45.

Winn W. C. J., Allen S. D., Janda W. M. 2006. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 6th ed. J.B. Lippincott, Philadelphia, pp.

Yang H. H., Mascuch S. J., Madoff L. C., Paoletti L. C. 2008. Recombinant group B *Streptococcus* alpha-like protein 3 is an effective immunogen and carrier protein. *Clin Vaccine Immunol* 15: 1035-1041.

Yucesoy G., Caliskan E., Karadenizli A., Corakci A., Yucesoy I., Huseyinoglu N., Babaoglu K. 2004. Maternal colonisation with group B streptococcus and effectiveness of a culture-based protocol to prevent early-onset neonatal sepsis. *Int J Clin Pract* 58: 735-739.

Zusman A. S., Baltimore R. S., Fonseca S. N. 2006. Prevalence of maternal group B streptococcal colonization and related risk factors in a Brazilian population. *Braz J Infect Dis* 10: 242-246.

## ANEXO 1

**PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO PELO *STREPTOCOCCUS* DO GRUPO B EM GESTANTES DO TERCEIRO TRIMESTRE ATENDIDAS NO HOSPITAL MATERNO INFANTIL**

**QUESTIONÁRIO APLICADO ÀS PARTICIPANTES DO ESTUDO**

<p>• IDENTIFICAÇÃO</p> <p>Paciente Nº. _____</p> <p>Número do Prontuário: _____</p> <p>Nome: _____</p> <p>Telefone de contato: _____</p> <p>Telefone para recados: _____</p> <p>Município de moradia: _____</p> <p>Data de nascimento ____/____/____.</p> <p>Qual sua idade em anos? _____</p> <p>Raça:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Branca</li> <li>2. Negra</li> <li>3. Indígena</li> <li>4. Parda</li> <li>5. Outras</li> </ol> <p>Você está tomando ou tomou algum medicamento nos últimos 7 dias?</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sim. Qual ou para quê? _____</li> <li>2. Não</li> </ol> <p>Fez uso de creme vaginal ou sabonete íntimo nas últimas 24 horas?</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sim. Se sim interromper a entrevista</li> <li>2. Não</li> </ol>
<p>• Características sócio-econômicas:</p> <p>Sabe ler e escrever?</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ( ) Sim</li> <li>2. ( ) Não</li> </ol> <p>Para quem sabe ler e escrever:</p> <p>Até que série você estudou? _____</p> <p>Renda Familiar:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. até um salário mínimo</li> <li>2. 2 a 3 salários mínimos</li> <li>3. 4 a 5 salários mínimos</li> <li>4. 6 ou mais salários mínimos</li> </ol>

- Antecedentes Obstétricos

Nº. de Gestações prévias \_\_\_\_\_

Já teve algum aborto espontâneo?

1. Não
2. Sim
9. Não informa

Nº. de parceiros sexuais no último ano:

1. 1
2. 2
3. 3
4. 4
5. > 4
999. Não informa

Atual gestação:

1. Feto único
2. Gemelar
3. Não sabe

Diabetes:

1. Sim
2. Não
3. Não sabe

Hipertensão:

1. Sim
2. Não
3. Não sabe

Exame para HIV:

1. Não realizou
2. Realizou mais desconhece o resultado
3. Resultado negativo
4. Resultado positivo
9. Não informa

Você já teve alguma doença venérea (sífilis, gonorréia)?

1. Sim. Qual? \_\_\_\_\_
2. Não
3. Não informa

Durante esta gravidez teve infecção urinária?

1. Sim
2. Não

Por algum motivo durante esta gestação você já foi internada?

1. Sim. Motivo: \_\_\_\_\_

2. Não

Gestação anterior com parto prematuro:

1. Sim
2. Não
3. Não informa

Gestação anterior com rompimento precoce de membrana (a bolsa estourou antes do parto) :

1. Sim
2. Não
3. Não informa

Gestação anterior com febre durante o parto:

1. Sim
2. Não
3. Não sabe ou não informa

Já teve gestação anterior que resultou em natimorto (o bebê nasceu morto)?

1. Sim
2. Não
3. Não se aplica

Você já teve algum filho que faleceu antes dos 3 meses de vida?

1. Sim
2. Não
3. Não se aplica

Caso tenha tido, sabe o motivo? \_\_\_\_\_  
Qual? \_\_\_\_\_

• Dados Laboratoriais:

Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

SWAB vaginal:

1. Sim
2. Não. Por quê? \_\_\_\_\_

SWAB anal:

1. Sim
2. Não. Por quê? \_\_\_\_\_

Resultado da cultura:

Swab vaginal: \_\_\_\_\_

Swab anal: \_\_\_\_\_

**ANEXO 2**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**INSTITUTO DE PATOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidada para participar, como voluntária, em uma pesquisa. Após ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizada de forma alguma. Se houver alguma dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Materno Infantil.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

**Título do Projeto:** Prevalência da colonização pelo *Streptococo* do grupo B em gestantes do terceiro trimestre atendidas no Hospital Materno infantil.

**Pesquisador Responsável:** Telma Sousa Pires – Biomédica do Hospital Materno Infantil (HMI) e Mestranda do Instituto de Medicina e Patologia Tropical de Goiás – Área de concentração: Epidemiologia.

**Telefone para contato:** (62) 3201 33 38/ 8149 44 02

**Pesquisadores participantes:** Marília Dalva Turchi  
Luíza Emylce Pelá Rosado Schmaltz

**Justificativa da realização da pesquisa:**

O *Streptococcus do grupo B* é uma bactéria que quando presente na vagina ou no ânus de uma gestante pode ser passada para o recém-nascido, podendo provocar infecções no recém-nascido.

O motivo para pesquisar a presença dessa bactéria na gestante é que existem medidas, isto é, tratamento para evitar que essa bactéria passe da gestante para seu filho, evitando infecções graves no bebê.

**Objetivo:**

O objetivo dessa pesquisa é detectar a presença dessa bactéria (*Streptococcus do grupo B*) que pode estar de forma silenciosa, isto é, sem causar qualquer sintoma na mulher grávida, mas que pode ser transmitida para o recém-nascido.

Caso você aceite participar dessa pesquisa você será entrevistada. A entrevista é confidencial e sigilosa. A entrevista será conduzida por um membro da equipe responsável pela pesquisa e terá duração de 10 a 15 min. Serão feitas perguntas incluindo: idade, escolaridade, moradia e sua situação de saúde durante essa gravidez.

Caso você concorde, também, será necessário colher material para exame. Pois essa bactéria fica alojada, com frequência, em secreções presente na vaginal ou no intestino, próxima ao ânus.

A coleta do material da vaginal e da região próxima ao ânus, é feita com cotonete apropriado, sem a utilização de espéculo, não causa dor e nem desconforto, porém se houver algum desconforto, será mínimo e passageiro. Esse procedimento não causa sangramento, não rompe a bolsa de água e não desencadeia o trabalho de parto.

Os cotonetes são esterilizados, descartáveis, ou seja, de uso único e individual, portanto não transmitem nenhuma infecção.

A vantagem em fazer esse exame (coleta de secreção vaginal e próxima ao ânus) é a possibilidade de encontrar a bactéria *Streptococcus do grupo B* durante a gestação. Caso você tenha essa bactéria, mesmo não tendo qualquer sintoma, ela pode ser transmitida para o seu filho e causar infecção na criança. O diagnóstico da bactéria antes do parto possibilita o seu tratamento, evitando infecção no recém-nascido.

Os exames serão realizados gratuitamente, portanto, você não terá nenhum gasto para obter os resultados.

Caso você não queira participar da pesquisa, você não será penalizada de forma alguma e seu acompanhamento não será prejudicado. Assim, seu atendimento ocorrerá da mesma forma, independente da pesquisa.

A coleta do material será no próprio Hospital Materno Infantil pelo médico que te acompanha no pré-natal no momento de sua consulta de rotina.

Caso você já esteja internada para dar a luz e não colheu o material durante o pré-natal e aceite participar da pesquisa, a coleta do material para a realização do exame será feita pela biomédica Telma Sousa Pires, que é autora da pesquisa.

- Pode-se desistir da participação em qualquer etapa da pesquisa.
- Em nenhum momento será divulgado ou utilizado seu nome.
- Os resultados desta pesquisa serão entregues para o médico que realiza acompanhamento no HMI e se a bactéria for encontrada em seu exame, seu bebê será beneficiado, pois com o resultado positivo o médico aplicará as medidas necessárias para controlar a infecção e proteger o recém-nascido.
- Toda dúvida que houver será esclarecida pelo pesquisador responsável deste estudo, Telma Sousa Pires, no laboratório de análises clínicas desta maternidade ou através dos telefones: 3201 33 38 ou 81494402.
- Caso você tenha alguma dúvida quanto à questão ética da pesquisa, pode procurar esclarecimentos no Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Hospital Materno Infantil, pessoalmente (Rua R 7 S/N Setor Oeste – sala do CEP), ou através do telefone 3201-33-52, o número do protocolo desta pesquisa é 65/2008. Esse Comitê de Ética e Pesquisa é composto por vários profissionais que analisaram o projeto da pesquisa e aprovaram a realização deste estudo.

♦ **CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO**

Eu, \_\_\_\_\_, carteira de identidade nº. \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo Prevalência da colonização pelo *Streptococo* do grupo B em gestantes do terceiro trimestre atendidas no Hospital Materno infantil, como sujeito. Fui devidamente informada e esclarecida pelo pesquisador \_\_\_\_\_ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Goiânia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2008.

**Nome do sujeito:** \_\_\_\_\_

**Assinatura do sujeito ou responsável:**

\_\_\_\_\_. Goiânia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2008.

**Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.**

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Goiânia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2008.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Goiânia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2008.

**Observações complementares:**

\_\_\_\_\_  
Telma Sousa Pires – Pesquisadora responsável

### ANEXO 3

#### **Fluxograma de realização do trabalho**

- 1º. Atendimento da paciente a partir da 32ª semana de gestação no serviço de pré-natal de alto risco, emergência obstétrica e maternidade do Hospital Materno Infantil (HMI).
- 2º. Abordagem e convite da paciente a participar do estudo .
- 3º. Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.
- 4º. Coleta da amostra (Swab anal e vaginal).
- 5º. Introduzir no meio Stuart.
- 6º. Amostra enviada para o laboratório de microbiologia.
- 7º. Semeadura em caldo Todd-Hewitt suplementado com gentamicina e ácido nalidíxico (18 a 24 horas a 37°C).
- 8º. Semeadura em ágar sangue de carneiro e em ágar sangue azida.
- 9º. Bacterioscopia pelo Gram
- 10º. Prova da catalase.
- 11º. Identificação da colônia com o uso do kit *Streptococos agalactiae*.
- 12º. Prova da bile esculina
- 13º. Teste de CAMP
- 14º. Entrega do resultado para a participante do estudo.



SES  
SECRETARIA  
DA SAÚDE



Hospital Materno Infantil



ESTADO DE GOIÁS  
SECRETARIA DE ESTADO DE GOIÁS

CA2 nº 24 /08-CEP-HMI

Goiânia, 28 de novembro de 2008.

CARTA DE APROVAÇÃO

Protocolo Nº 65/08

Título do Projeto: **“Prevalência da colonização pelo Estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre Atendidas no Hospital Materno Infantil”.**(V - 2).

Investigador(a): Telma Sousa Pires.

Prezado(a) Senhor(a),

Comunico-lhe que o **Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Hospital Materno Infantil CEP-HMI**, analisou e aprovou, o projeto de pesquisa indicado em epígrafe, em sua Versão – 2, bem como o TCLE – Versão 2, vez que foi considerado o atendimento às adequações sugeridas em análise anterior, consoante aos princípios éticos vigentes.

Informo, ainda, que a presente aprovação tem validade pelo período de tempo definido no projeto e caso hajam alterações no cronograma, ainda que alheias a vontade do pesquisador, estas deverão ser informadas a esse Comitê para fins de análise e deliberação.

Como já é de conhecimento de V.Sa. destaco, por oportuno, a necessidade de ser encaminhado à esse Comitê relatórios semestrais que informem sobre o andamento, encerramento, conclusão e publicação da pesquisa.

Atenciosamente,

  
Dr. MARCO AURÉLIO ALBERNAZ

Coordenador do CEP-HMI