

Biblioteca Monsenhor Domingos Prado Fonseca

N. Class. 616 - 014

Cutter S.586p

Imp/Ed. -

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SUL DE MINAS - UNIS/MG

BIOMEDICINA

NATÁLIA PELOSO SILVA

**PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO POR ESTREPTOCOCOS DO
GRUPO B EM GESTANTES ATENDIDAS EM AMBULATÓRIO DE PRÉ-
NATAL DE ALTO RISCO CONVENIADO AO SISTEMA ÚNICO DE
SAÚDE**

**Varginha
2008**

NATÁLIA PELOSO SILVA

**PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO POR ESTREPTOCOCOS DO
GRUPO B EM GESTANTES ATENDIDAS EM AMBULATÓRIO DE PRÉ-
NATAL DE ALTO RISCO CONVENIADO AO SISTEMA ÚNICO DE
SAÚDE**

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro universitário do Sul de Minas – UNIS/MG como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel, sob orientação da Professora Karen Shelen Bueno.

**Varginha
2008**

FOLHA DE APROVAÇÃO

NATÁLIA PELOSO SILVA

PREVALÊNCIA DA COLONIZAÇÃO POR ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B EM GESTANTES ATENDIDAS EM AMBULATÓRIO DE PRÉ-NATAL DE ALTO RISCO CONVENIADO AO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS/MG, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel pela Banca Examinadora composta pelos membros:

() Aprovado

() Reprovado

Data / /

Prof^ª. Especialista Karen Shelen Bueno

Prof^ª. Especialista Maria Celma do Prado Furlanetto

Prof^º. Especialista Elierson José Gomes da Rocha

OBS.:

Dedico este trabalho aos meus pais, que me deram vida, amor, incentivo e que diariamente me dão exemplo de coragem e fé; à minha irmã pelo apoio e carinho; ao meu namorado pela compreensão; à minha professora e orientadora Karen, pela atenção, companheirismo e amizade.

Agradeço a minha orientadora Karen Shelen Bueno, que me orientou com muita sabedoria, dedicação e competência; à todos do IPD que sempre me apoiaram e me ajudaram no que fosse preciso especialmente ao Sérgio e a Helga; à minha família pela paciência nos momentos de preocupação e a todos meus amigos pelo companheirismo.

“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original”.
Albert Einstein

RESUMO

SILVA, Natália Peloso. **Prevalência da colonização por estreptococos do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal de alto risco conveniado ao Sistema Único de Saúde.** Orientadora: Karen Shelen Bueno. Minas Gerais: UNIS/MG, 2008. Monografia (Bacharelado em Biomedicina)

A colonização pelo estreptococo do Grupo B (EGB) é, em nível mundial, altamente prevalente entre as gestantes, variando de 4% a 30%. O EGB é relevante causa de infecção neonatal representada por pneumonia, meningite ou sepse. O trato gastrointestinal materno é o seu reservatório natural e provavelmente é a fonte de colonização vaginal. A transmissão ao recém-nascido ocorre principalmente durante o trabalho de parto ou ruptura de membranas e pode causar sérias conseqüências ao neonato. No nosso meio ainda não foram adotadas estratégias de prevenção e tratamento para reduzir a incidência de sepse neonatal. Portanto, torna-se fundamental o conhecimento acerca da prevalência de gestantes colonizadas bem como os fatores de risco associados à colonização para que estratégias baseadas no rastreamento do microrganismo sejam adotadas e efetivas na prevenção da doença neonatal. O presente estudo tem como objetivo avaliar a prevalência de EGB no trato genital e perianal em gestantes entre 35 a 37 semanas de gestação e identificar os fatores de risco associados à essa colonização. Foi realizado um estudo de corte transversal, no período de maio a julho de 2008. Foram analisadas 22 amostras vaginais e perianais de gestantes atendidas no Núcleo de Apoio Materno Infantil de Varginha (NAMI) com utilização de dois *swabs* estéreis com posterior inoculação dos mesmos em meio Todd-Hewitt. A ficha de dados referente a fatores de risco para a gestação de cada paciente foi preenchida pela enfermeira chefe do núcleo e os dados foram analisados através do teste exato de Fisher. A identificação presuntiva do microrganismo se deu pelo Teste de CAMP, Hidrólise do Hipurato e susceptibilidade aos antimicrobianos Sulfametoxazol- Trimetoprim (Sulfazotrim) e Bacitracina. Detectou-se alto índice de prevalência da colonização pelo EGB (27,2%) e não houve relação estatística entre os fatores de risco clínicos presentes nas gestantes com a positividade materna pelo EGB. Desta forma, a prevalência da colonização pelo EGB em gestantes do NAMI encontrada neste estudo foi alta atentando à importância da implementação de estratégias profiláticas baseadas através da cultura para detecção do *S. agalactiae* já que os fatores de risco relacionados à colonização não foram estatisticamente significativos.

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*. Colonização. Fatores de risco. Gestação. Doença neonatal.

ABSTRACT

SILVA, Natália Peloso. **The Prevalence of colonization by group B strep in pregnant women from a high-risk prenatal care center agreed to Unified Health System.** Advisor: Karen Shelen Bueno. Minas Gerais: UNIS/MG, 2008. Monograph (Bachelor of Biomedicine).

The colonization by Group B strep (GBS) is, worldwide, highly prevalent in pregnant women, ranging from 4% to 30%. The GBS is a relevant cause of neonatal infection represented by pneumonia, meningitis and sepsis. The maternal gastrointestinal tract is a natural reservoir and it is probably the source of the vaginal colonization. The transmission to the newborn occurs mainly during labor or rupture of membranes and can cause serious consequences to the neonate. In our society it wasn't adopted any strategies for prevention and treatment to reduce the incidence of neonate sepsis. Therefore, it is fundamental the knowledge about the prevalence of pregnant women colonized as well as the risk factors associated with the colonization so that strategies based on the tracking of the microorganism are adopted and effective in the prevention of the neonatal disease. The present study aim to evaluate the prevalence of GBS in the genital and perianal tract in pregnant women between 35 to 37 weeks of gestation and identify the risk factors associated with this colonization. A study was carried out from May to July of 2008. Twenty-two vaginal and perianal samples were analyzed in the Center for Maternal Infantile Support of Varginha with the utilization of two sterile swabs with posterior inoculation of them in the culture medium Todd-Hewitt. The forms related to risk factors for the gestation of each patient were filled out by the head nurse and the information was analyzed by Fisher's exact test. The presumptive identification of the microorganism was given by CAMP Test, Hipurato Hydrolysis Test and antimicrobial susceptibility to trimethoprim-sulfamethoxazole (Sulfazotrim) and Bacitracin. It was detected high prevalence of colonization by GBS and there wasn't statistical relationship between clinical risk factors presented in the pregnant women and maternal positivity by GBS. This way, the high prevalence of colonization by GBS in pregnant from the Center found in this study was high considering the importance of the implementation of prophylactic strategies based on culture to detect the *S. agalactiae* since the risk factors *related* to colonization weren't statistically significant.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*. Colonization. Risk factors. Pregnancy. Neonatal disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Tubos contendo meio Todd-Hewitt	27
Figura 2- Disposição de cocos Gram-positivos	28
Figura 3- Teste de CAMP positivo	29
Figura 4- Teste da Hidrólise do Hipurato positivo	29
Figura 5- Porcentagem de gestantes colonizadas e não colonizadas	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Colonização pelo EGB	32
Tabela 2- Fatores de risco e a colonização materna pelo EGB.....	33



SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
1 ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B.....	13
1.1 Histórico e taxonomia.....	13
1.2 Características do microrganismo.....	14
1.3 Fatores de virulência.....	16
1.4 Habitat e infecções em humanos.....	18
1.5 Apresentação clínica das infecções neonatais causadas pelo <i>S. agalactiae</i>	20
1.6 Métodos de detecção da colonização pelo <i>S. agalactiae</i>	22
1.7 Protocolo de prevenção da infecção neonatal pelo <i>S. agalactiae</i>	23
1.8 Profilaxia antimicrobiana pelo <i>S. agalactiae</i>	24
2 PACIENTES E MÉTODOS.....	26
2.1 Tipo de estudo.....	26
2.2 População estudada.....	26
2.3 Coleta das amostras para cultura.....	26
2.4 Isolamento e identificação presuntiva do EGB.....	27
2.5 Dados clínicos das pacientes.....	30
2.6 Análises dos dados.....	30
3 RESULTADOS.....	31
4 DISCUSSÃO.....	34
5 CONCLUSÃO.....	39
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
7 APÊNDICE A – Termo de Consentimento livre e esclarecido.....	42
8 ANEXO I – Ficha de dados das pacientes avaliadas.....	43

INTRODUÇÃO

Os estreptococos do grupo B- *Streptococcus agalactiae*- são cocos, Gram positivos, presentes no trato intestinal de humanos e que, por proximidade anatômica, colonizam o trato genitourinário de mulheres. A principal relevância clínica deste microrganismo se dá pelo desenvolvimento de sepse, meningite e pneumonia em recém-nascidos.

O mecanismo de infecção perinatal ocorre por transmissão vertical pelo contato direto do neonato com secreções maternas contendo o EGB (Estreptococos do grupo B) antes ou durante o parto. “Acredita-se que 50 a 75% dos recém-nascidos expostos ao EGB tornam-se colonizados e que cerca de 2% desenvolvem infecções” (CAETANO *apud* POGERE, 2005, p. 2).

Por compor a flora microbiana normal presente na genitália feminina, a infecção é imperceptível, mas se transmite para o recém-nascido em metade dos casos de parto em mulheres infectadas. Os bebês dessas gestantes apresentam um alto risco de contrair infecção se comparando àqueles com mães sem a contaminação (POGERE, 2005).

Medidas profiláticas como o embasamento na cultura de secreções vaginais e anais para identificação de gestantes colonizadas e antibioticoterapia durante o trabalho de parto têm sido incentivadas em nível internacional, com o intuito de diminuir a incidência de sepse neonatal.

Protocolos de recomendações para rastreamento e antibioticoprofilaxia desta infecção foram criados, sendo o último em 2002 pelo CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), que recomenda o rastreamento universal de gestantes entre 35 e 37 semanas e a Penicilina como antibiótico de escolha. Porém, em nosso meio, ainda não há consenso sobre o rastreamento. Há poucos estudos de prevalência do Estreptococo do Grupo B em nossa população gestante, o que torna difícil a avaliação do custo-benefício de medidas de prevenção preconizadas nos protocolos internacionais.

A obtenção de um diagnóstico confiável e rápido é de fundamental importância para a preservação da saúde do recém-nascido já que é alta a taxa de morbidade e mortalidade nas infecções causadas pelo Estreptococo Beta - hemolítico do grupo B.

A escassez de informação a respeito de sua ocorrência em nosso meio pode ser vista como responsável, pelo menos em parte, pela pouca atenção dada pelos órgãos de saúde, responsáveis pela vigilância e prevenção, tanto no que se refere à investigação das gestantes durante o pré-natal, quanto à profilaxia correta das mulheres colonizadas no momento do parto.

Diante desta realidade, a introdução de estudos no meio científico, que avaliem a prevalência deste microrganismo em gestantes bem como os fatores de risco relacionados à contaminação materna são de extrema importância para o conhecimento acerca da população gestante de alto risco do município.

1 ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B

1.1 Histórico e Taxonomia

O gênero *Streptococcus* tem sofrido várias alterações em sua classificação desde que foi descrito pela primeira vez por Billroth em 1874.

O nome genérico dos estreptococos foi utilizado, primeiramente, por Rosenbach, em 1884, para descrever uma bactéria esférica que crescia em cadeias e que foi isolada de lesões supurativas no homem. Foi primeiramente descrito como agente etiológico da mastite bovina e assim nomeado, por Lehmann e Neumann em 1986, para designar estreptococos isolados do leite. Apenas na década de 1960 demonstrou-se que esse microrganismo era freqüentemente responsável por infecções maternas e de recém-nascidos (CAETANO, 2008).

Nos últimos anos, submeteu-se a taxonomia dos estreptococos e de bactérias semelhantes aos estreptococos há uma exaustiva revisão e ampliação. A descoberta de novas espécies, como os “estreptococos de colônias diminutas”, seu reconhecimento bem como sua importância clínica e características semelhantes aos estreptococos Beta-hemolíticos, de colônias grandes e agrupáveis, acarretaram mudanças drásticas nas classificações envolvendo a família Estreptococcaceae.

As primeiras classificações foram baseadas unicamente na atividade hemolítica e nas reações sorológicas com anticorpos de Lancefield. A utilização do meio de ágar sangue, iniciada por Shottmuller e colaboradores em 1903, possibilitou a diferenciação do padrão de hemólise (α , β ou γ hemolíticos) sendo um grande passo na diferenciação dos estreptococos (FACKLAM *apud* BORGER, 2005, p. 12).

Rebeca Lancefield, em 1933 utilizou um carboidrato presente na parede celular dos estreptococos, Carboidrato C, para classificá-los de acordo com sua propriedade antigênica. Assim, foram utilizadas técnicas sorológicas para uma classificação mais fidedigna dos estreptococos.

Técnicas moleculares foram utilizadas, anos mais tarde, a fim de se agrupar o gênero estreptococos através de relações filogenéticas. A partir dessa classificação, o *Streptococcus agalactiae*, estreptococo do grupo B, foi classificado como microrganismo piogênico juntamente com *Streptococcus pyogenes*.

A utilização de técnicas moleculares para modificação taxonômica do gênero se baseou na publicação do segundo volume do “*Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*” em 1986. De acordo com este Manual a família Streptococcaceae está dividida em 10 gêneros entre os quais se encontra o *Streptococcus*.

1.2 Características do microrganismo

Os estreptococos do grupo B são microrganismos anaeróbios facultativos crescendo melhor em atmosfera enriquecida com dióxido de carbono (crescimento capnofílico). Possuem exigências nutricionais complexas, necessitando da utilização de meios enriquecidos com sangue ou soro para seu isolamento (MURRAY, 2004). São homofermentadores sendo o único produto de fermentação da glicose, o ácido láctico. Logo, obtém a energia necessária para síntese de material celular através da fermentação de carboidratos.

“Membros do gênero *Streptococcus* caracteristicamente crescem formando cadeias (ou cadeias de diplococos) quando cultivados em meios líquidos” (KONEMAN, 2001, p. 595).

Vale destacar que são denominados estreptococos do grupo B de Lancefield, pois são a única espécie, dentre o gênero *Streptococcus*, que apresenta o antígeno do grupo B em sua parede celular.

Características como ausência de flagelo, não produção de esporos e ausência de enzima extracelular catalase, o fazem diferenciar de outras famílias já conhecidas, como a família Micrococcaceae.

Existem várias formas de identificação da espécie sendo o primeiro método de triagem feito a partir da observação da hemólise produzida pelo microrganismo em meio ágar sangue, já que a grande maioria das cepas isoladas desta espécie são beta-hemolíticas, porém com discreto halo de hemólise ou não-hemolíticas. A classificação baseada pela hemólise produzida pelo gênero estreptococos também pode ser observada em outras espécies do gênero por alfa (α) hemólise (quando causam lise parcial das hemácias) e gama (γ) hemólise (hemólise não detectável) (CAETANO, 2008).

A característica fenotípica de beta-hemólise resulta da produção de uma hemolisina pelo *Streptococcus agalactiae*, com poder de lisar hemácias e causar danos à outras células eucarióticas, por isso chamada beta-hemolisina/citolisina (NIZET *apud* BORGER, 2005).

Identificações presuntivas desta espécie ocorrem através da observação de β - hemólise discreta em ágar sangue, presença de cocos Gram positivos aos pares ou em pequenas cadeias observados microscopicamente após coloração de Gram, incapacidade de crescimento na presença de bile, resistência aos antimicrobianos Bacitracina e Sulfametoxazol- Trimetoprim (Sulfazotrim) e positividade para Hidrólise do Hipurato e para teste de CAMP, descrito em 1944 por Christie, Atkins e Munch- Peterson (cujas iniciais deram origem à sigla CAMP). Porém, a confirmação de resultados obtidos com a utilização destes tipos de identificação só ocorre após a realização de testes sorológicos, nos quais se detecta a presença do antígeno B específico do *S. agalactiae* por meio da utilização de antissoros específicos.

“Desde 1979, muitos laboratórios utilizam provas de aglutinação com látex ou métodos imunoenzimáticos para diagnóstico rápido de infecções sistêmicas por estreptococos do grupo B” (KONEMAN, 2001, p. 598).

Apesar do método de sorogrupagem desenvolvido por Lancefield ser amplamente aceito para identificação confirmatória dos estreptococos do grupo B, os testes desenvolvidos com base nas características fisiológicas deste microrganismo tem maior utilidade prática na identificação presuntiva dos estreptococos por possuírem baixo custo e serem de fácil execução.

A classificação a partir da composição antigênica dos estreptococos se dá por um polissacarídeo localizado na parede celular, de composição variável, denominado carboidrato C (KONEMAN, 2001). Tomando por base esse polissacarídeo, na década de 1930, Rebeca Lancefield dividiu os estreptococos em cinco grupos sorológicos designados por letras maiúsculas do alfabeto (A, B, C, D, E). Algum tempo depois, estudos comprovaram a existência de mais grupos ampliando para vinte o número de grupos sorológicos classificados, então, de A a H e de K a V (CAETANO, 2008).

Para subdivisão de cepas de *S. agalactiae* são utilizados, como base, três marcadores sorológicos: proteína C de superfície (comum a todas as espécies do gênero), polissacarídeos capsulares tipo- específicos (Ia, Ib, II, III, IV, V e VI) e antígeno de parede celular grupo- específico (antígeno B, composto de ramnose, N- acetilglicosamina e galactose).

Os sorotipos imunologicamente distintos são importantes marcadores epidemiológicos, pois o conhecimento de cada sorotipo associado à doença que este produz auxiliam no desenvolvimento de vacinas e, assim, na prevenção contra as patologias causadas por este microrganismo.



“O sorotipos Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII e VIII têm sido detectados em amostras isoladas a partir de espécimes clínicos de gestantes, neonatos infectados e mulheres não grávidas” (HARRISON *apud* BORGER, 2005, p. 15). Em doenças no neonato, principalmente meningite e septicemia, o sorotipo III é altamente detectado. Esta detecção ocorre, também, em canal vaginal de gestantes assintomáticas (BORGER, 2005).

1.3 Fatores de virulência

Os estreptococos do grupo B produzem várias enzimas, incluindo Dnases, hialuronidase, proteases, hipuricase e hemolisinas. Estas enzimas, que são fundamentais para a identificação presuntiva do microrganismo, conferem a ele mecanismos para desenvolver patogenias em humanos.

Outro fator de virulência, a cápsula, confere aderência às superfícies epiteliais para posterior invasão do microrganismo. Entretanto, o papel desta estrutura como fator de virulência está mais envolvido à inibição da fagocitose por macrófagos e neutrófilos do hospedeiro.

Tão importante quanto o mecanismo de evasão da fagocitose é a produção da enzima extracelular beta-hemolisina/citolisina. Esta hemolisina é produzida pela grande maioria das cepas de *S. agalactiae* tendo como alvo hemácias, células endoteliais, epiteliais e macrófagos do hospedeiro. Sua ação lítica na hemácia ocorre através da formação de poros em sua membrana alterando o equilíbrio osmótico da célula ocasionando sua lise.

Segundo Doran *apud* Borger (2005), estudos *in vivo* com mutantes isogênicos não – hemolíticos e hiper – hemolíticos do EGB têm demonstrado o importante papel dessa hemolisina na patogênese das infecções, sobretudo no desenvolvimento e gravidade dos quadros de meningite.

O Fator CAMP, criado por Christie, Atkins e Munch - Petersen, é um teste altamente utilizado para identificação laboratorial de estreptococos do grupo B (EGB). Este teste se baseia na produção de uma proteína extracelular difusível (fator CAMP) pelo EGB, que reage sinergicamente com uma beta-lisina do *Staphylococcus aureus*, causando lise dos eritrócitos. Esta reação sinérgica intensifica a hemólise de cepas de *Staphylococcus aureus* (produtores de beta-lisina) vista em ágar sangue de carneiro. Um teste positivo aparece como uma zona de hemólise,

em forma de "ponta de flecha", na área em que a beta-lisina estafilocócica e o fator CAMP estão difundidos (CAETANO, 2008). "O fator CAMP também é considerado um fator de virulência, devido à sua capacidade de se ligar a imunoglobulinas G e M, via fração Fc" (BAKER *apud* CAETANO, 2008, p.5).

A enzima hialuroidato liase, pertencente à família das hialuronidasas, age degradando o ácido hialurônico presente na matriz extracelular promovendo a disseminação da bactéria através dos tecidos do hospedeiro. Já a enzima oligopeptidase degrada pequenos peptídeos, inclusive fatores protéicos de defesa do hospedeiro.

S. agalactiae produz, também, a enzima C5a peptidase que inativa o componente C5a do complemento, alterando a quimiotaxia de neutrófilos, diminuindo a ligação deste componente à cascata de reações formadas tendo, como conseqüência, o impedimento ou diminuição de células de defesa no local da agressão pelo microrganismo. Além desta ação, tal enzima parece estar relacionada à invasão tecidual pelos estreptococos do grupo B por possuir afinidade pela fibronectina, proteína adesiva que ajuda as células a se aderirem à matriz.

A presença do antígeno C na parede celular do EGB também confere a ele virulência. Este antígeno é um complexo formado por duas unidades: alfa e beta. O *S. agalactiae* pode apresentar tanto uma unidade quanto ambas, o que os difere de um sorotipo para outro. A unidade alfa, assim como a cápsula, em ausência de anticorpo específico no hospedeiro, protege o microrganismo da fagocitose proporcionando sua evasão dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Já a unidade beta, juntamente com a unidade alfa, provocam resposta imunológica em camundongos (BORGER, 2005).

Vários outros antígenos estão presentes nos estreptococos do grupo B, diferenciando as respostas imunológicas desenvolvidas pelo hospedeiro bem como o mecanismo de agressão do microrganismo. É fundamental a descoberta de todos os antígenos existentes, pois o seu conhecimento possibilita o desenvolvimento de vacinas com composição protéica para prevenção e tratamento das doenças produzidas pelo EGB. "A vantagem de se fazer uma vacina baseada apenas em proteínas, ao invés de se utilizar polissacarídeos, seria de evitar a reação cruzada com as glicoproteínas humanas" (STÁLHAMMAR- CARLEMALM *apud* BORGER, 2005, p. 19).

1.4 Características epidemiológicas e infecções em humanos

O reservatório primário do Estreptococo do Grupo B (EGB) é o trato gastrointestinal, sendo o trato geniturinário o segundo local mais comum de sua detecção. No entanto, o EGB já foi isolado dos mais variados locais e em diversas situações clínicas envolvendo recém-nascidos [...] (MANNING *apud* NOMURA, 2004, p. 21).

De acordo com a literatura, as taxas de prevalência da colonização por estreptococo do grupo B em gestantes podem variar de 5 a 40% (BORGER, 2005) devendo-se essa grande variação aos seguintes fatores: o período de gestação no qual as culturas são realizadas, o local de coleta, os métodos bacteriológicos utilizados para a detecção do estreptococo do grupo B e a origem e características da população estudada.

Segundo Koneman (2001), os estreptococos são os principais causadores de doenças no período neonatal. A colonização pelo microrganismo se dá em reto e vagina e, na maioria dos casos, 5% a 35%, a colonização vaginal é assintomática. Na realidade, a colonização vaginal ocorre por contaminação do trato gastrointestinal, que por proximidade anatômica, coloniza o trato geniturinário.

Sob essa perspectiva, o diagnóstico baseado somente em dados clínicos não é eficaz para detecção deste microrganismo visto que, em casos assintomáticos, 60% das gestantes colonizadas possuem o *Streptococcus agalactiae* de modo intermitente (KONEMAN, 2001).

A intermitência da colonização por EGB em gestantes foi demonstrada por BOYER *et al.* (1983), que avaliaram gestantes entre 26 e 28 semanas de gestação. Nesta avaliação verificou-se que 65% delas permaneciam colonizadas até o final da gravidez e 8% das gestantes, com cultura negativa no início da gestação, se apresentavam colonizadas ao término do período gestacional (CAETANO, 2008).

A utilização de testes sensíveis e específicos como testes presuntivos para detecção do microrganismo bem como testes sorológicos para confirmação são utilizados em larga escala para a obtenção de resultados confiáveis e precisos.

Os conhecimentos a respeito deste microrganismo, como seu poder patogênico e doenças relacionadas a sua colonização foi descrito apenas no final da década de 30 por Fry (1938) que, observando casos fatais de sepse, relacionou a colonização do *Streptococcus agalactiae* como agente causador da doença neonatal. Entretanto, somente em 1964 Eickoff e colaboradores

publicaram o primeiro trabalho que relacionava a presença de estreptococos do grupo B com infecções em neonatos.

Anos mais tarde, três pesquisadores demonstraram, separadamente, a relação do EGB com a primeira causa de sepse neonatal em uma enfermaria dos Estados Unidos. Estes estudos comprovaram a etiologia do EGB como causador de doenças em neonatos e, desta forma, o microrganismo passou a ser agente etiológico não apenas de mastite bovina mas, também, de sepse neonatal (SCHUCHAT *apud* BORGER, 2005).

Infecções por EGB têm se tornado um crescente problema para adultos idosos com doenças crônicas, particularmente a diabetes mellitus e os portadores de aparelhos invasivos como cateteres. O aumento das taxas de doenças por EGB em adultos não grávidos pode ser atribuído, em parte, ao crescimento da população de adultos com uma maior expectativa de vida em decorrência dos avanços da medicina (FARLEY, 2001 *apud* BORGER, 2005, p. 22).

A colonização pelo estreptococo no recém-nascido ocorre através da colonização da mãe, portadora do microrganismo, por transmissão vertical, seja no útero ou durante o parto. Esta transmissão se dá principalmente pela ascensão da bactéria à cavidade uterina durante o trabalho de parto. Este risco aumenta após ruptura de membranas amnióticas ou pelo contato com secreções maternas, no canal do parto (CAETANO, 2008).

De acordo com Borger (2005), o *Streptococcus agalactiae* pode causar quadros clínicos leves como infecção urinária e vaginal bem como quadros clínicos mais graves: celulite e fascite. Porém, sua maior relevância se dá pelos quadros graves de septicemia e meningite em neonatos.

Um fator importante de proteção contra a colonização do recém-nascido são os anticorpos maternos antipolissacarídeos capsulares passados ao feto via transplacentária durante a gestação. Essa passagem ocorre principalmente nas últimas oito semanas de gestação sendo as imunoglobulinas da classe G (IgG). Logo, recém-nascidos prematuros não recebem estes anticorpos maternos tendo maiores chances de desenvolver a doença estreptocócica após o nascimento (GRASSI, 2001 *apud* BORGER, 2005).

São várias as complicações que tanto gestante quanto feto podem sofrer pela colonização do EGB. Dentre estas complicações estão: aumento de risco de aborto espontâneo e trabalho de parto prematuro, ruptura prematura das membranas e baixo peso ao nascer. Após o nascimento, a gestante pode desenvolver uma endometrite e, menos freqüente, infecção da parede abdominal,

abscessos pélvicos, tromboflebite pélvica, osteomielite e meningite (EL BEITUNE, 2005 *apud* CAETANO, 2008).

Assim, os fatores de risco para doença perinatal por estreptococos do grupo B são observados através da colonização materna retal ou vaginal; idade gestacional inferior a 37 semanas; ruptura prolongada de membrana; infecção intra-amniótica; idade materna; baixas condições sócio-econômicas; baixos índices de anticorpos anticapsular e febre intraparto (FERNANDES, [200?]). Porém, o desenvolvimento da doença perinatal somente se dá quando a cultura para EGB da gestante se encontrar positiva. A associação entre fatores de risco e positividade para EGB é amplamente discutida e questionada necessitando de estudos epidemiológicos mais aprofundados para conhecimento das gestantes colonizadas em nosso meio e os fatores de risco associados a colonização em nossa população.

1.4 Apresentação clínica das infecções neonatais causadas pelos *S. agalactiae*

Segundo Koneman, 2001 a doença perinatal estreptocócica pode ocorrer em um a quatro lactentes colonizados para cada 1000 nascidos vivos. “A transmissão vertical pode ocorrer de 30 a 70% dos neonatos cujas mães têm cultura positiva para este microrganismo, na ausência de quimioprofilaxia adequada” (CAETANO, 2008, p. 6).

A infecção sistêmica por EGB segue dois padrões de manifestações clínicas denominados doença de início precoce e doença de início tardio, que assim são denominados pelo início da sintomatologia no neonato.

A doença de início precoce se associa a infecção do microrganismo pelo neonato no útero ou após nascimento, no período neonatal com manifestações clínicas desde as primeiras horas de vida até o sétimo dia de nascimento. A infecção durante a gestação ocorre através do contato de secreções contaminadas com a bactéria. Este contato se dá em casos como ruptura precoce de membrana. Já a contaminação durante o parto ocorre pelo contato do neonato com o canal vaginal colonizado com o estreptococo do grupo B. Apesar de grande parte das gestantes estarem colonizadas e transmitirem o microrganismo para o neonato, apenas 2 % dos recém-nascidos se tornarão infectados, podendo ou não desenvolver síndromes clínicas (KONEMAN,2001). De acordo com Caetano (2008), a apresentação clínica em 89% dos casos se dá por sepse com ou

sem pneumonia e 10% por meningite sendo que, desses, 50% apresentam convulsões nas primeiras 24 horas de vida.

A sintomatologia da doença de início precoce inclui bacteremia, pneumonia, meningite, choque séptico e neutropenia (KONEMAN, 2001). Entretanto, os sintomas da infecção precoce são bastante inespecíficos necessitando-se de um protocolo médico específico para diagnóstico rápido e preciso da infecção pelo EGB.

Na infecção precoce observa-se, na maioria dos casos, envolvimento pulmonar e envolvimento das meninges. A meningite pode ser inicialmente inaparente sendo, então, importante o exame de líquido cefalorraquidiano, para detecção da meningite nos neonatos infectados pelo EGB. De acordo com Murray (2004), a taxa de mortalidade diminui para menos de 5% com a análise do líquido cefalorraquidiano demonstrando a diminuição como resultado do rápido estabelecimento diagnóstico e do tratamento de suporte mais adequado para cura da doença.

Para Caetano (2008), as maiores taxas de infecção são encontradas em recém-natos prematuros. Isto ocorre pois eles possuem menores concentrações de anticorpos da classe IgG, além de imaturidade anatômica e associação de pré-maturidade com baixo peso ao nascer. Estes fatores favorecem a multiplicação rápida do microrganismo e evolução fulminante da doença.

A doença de início tardio ocorre em um terço dos casos manifestando-se entre 7 dias e 12 semanas de idade, com média de 27 dias. Pode ocorrer devido a transmissão vertical, na metade dos casos, ou ter causa nosocomial, com aquisição do microrganismo através da mãe colonizada, de outras pessoas que possuem contato com a criança ou do próprio ambiente hospitalar (KONEMAN, 2001). Logo, todos os ambientes hospitalares devem possuir parâmetros de qualidade que visem à assepsia adequada dos profissionais de saúde ali presentes bem como dos equipamentos utilizados pois, desta forma, grande parte das infecções nosocomiais por neonatos serão prevenidas.

A manifestação clínica mais comum na infecção de início tardio se dá por meningite, 30 a 40% dos casos, bacteremia sem foco aparente, 40%, artrite séptica, 5 a 10%, e raramente onfalite e osteomielite (COSTA *et al*, [200?]).

Tanto na doença de início precoce quanto na de início tardio, as seqüelas neurológicas são as conseqüências principais e mais drásticas aos recém-nascidos sobreviventes. O acompanhamento neurológico e fisioterápico torna o tratamento oneroso aos serviços de saúde

comprovando que a prevenção e implementação do exame de detecção do EGB no pré-natal é fundamental para garantir a saúde do neonato e possibilitar o corte de gastos na área.

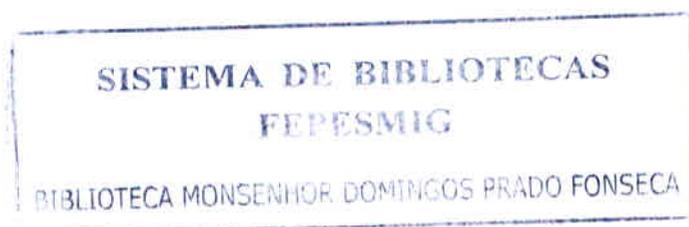
1.6 Métodos de detecção da colonização pelo *S. agalactiae*

O método de detecção considerado padrão-ouro para identificação do EGB na gestante é feito através da cultura a partir de amostras coletadas da vagina (intróito vaginal) e região anorretal. O período gestacional para coleta preconizado pelo CDC, 2002 é entre 35^a a 37^a semana de gestação. Para inibição da flora saprófita na cultura são utilizados meios seletivos como o meio Todd-Hewitt suplementado de ácido nalidíxico e gentamicina, permitindo maior sensibilidade ao método.

Os microrganismos isolados na cultura, suspeitos de serem estreptococos do grupo B são submetidos à coloração de Gram e à prova da Catalase. Aqueles que se apresentam como cocos Gram-positivos dispostos em cadeias e Catalase- negativos são submetidos às provas específicas e presuntivas de identificação como a prova de Christie, Atkins e Munch-Peterson (CAMP), teste da Hidrólise do Hipurato e sensibilidade aos antimicrobianos Sulametoxazol-trimetoprim e Bacitracina cujos resultados positivos ao primeiro e segundo testes e resistentes ao terceiro teste identificam presuntivamente o *S. agalactiae*

São utilizadas, também, técnicas sorológicas com especificidade de 100% para identificação confirmatória do EGB. A sorologia empregada para detecção do *S. agalactiae* é realizada através da detecção do antígeno do grupo de Lancefield por meio do teste de aglutinação em látex. Porém, este método somente apresenta 100% de especificidade e sensibilidade se aplicado à colônia já isolada da amostra clínica em meio adequado. “A aplicação do teste diretamente na amostra clínica, antes da cultura, apresenta sensibilidade de apenas 65%” (CAETANO, 2008, p. 9).

Atualmente, com o avanço das técnicas moleculares os testes baseados em diagnósticos rápidos estão sendo cada vez mais utilizados. A detecção do EGB através da biologia molecular parece ser promissora, porém o alto custo da técnica dificulta a sua comercialização e utilização pelos serviços de saúde, principalmente, àqueles gratuitos como o Sistema Único de Saúde.



1.7 Protocolo de prevenção da infecção neonatal pelo *S. agalactiae*

A incidência de doença perinatal nos Estados Unidos até os anos 70 era de 2 a 3 casos por mil partos. Apresentava letalidade de cerca de 50%, caindo para 4% com o aprimoramento dos cuidados intensivos neonatais. Esta diminuição se justifica pelo rastreamento das gestantes colonizadas associado a antibioticoterapia no trabalho de parto, a partir da década de 1980. (CAETANO, 2008). Entretanto, apesar da implementação do Guia editado em conjunto pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) em 1996 e revisado em 2002, o estreptococo do grupo B permanece como uma das principais causas de infecção perinatal.

O protocolo de condutas proposto em 1996 admitia o uso de duas estratégias para indicação de profilaxia, baseada em grupo de risco ou em culturas obtidas durante a gestação. A primeira, baseada na identificação de fatores de risco obstétricos durante o trabalho de parto, determinava que deveriam ser utilizados antibióticos como medida preventiva nos seguintes casos: desenvolvimento de febre intraparto; trabalho de parto anterior a 37^a semana de gestação e ruptura de membrana superior a 18 horas. Pela segunda conduta, o antibiótico era indicado às gestantes cujo *swab* retal ou vaginal, colhido entre a 35^a e 37^a semana de gestação, era positivo para o EGB. Para ambas as estratégias, a profilaxia era indicada também quando havia antecedente da doença de início precoce em gestação anterior ou era diagnosticada bacteriúria durante a gravidez.

Em 2002, com a finalidade de definir a melhor prática profissional, sugeriu-se um protocolo para uniformização da conduta utilizada por pediatras, obstetras e microbiologistas. Esse protocolo propôs o rastreamento universal da colonização pelo EGB de todas as gestantes, como a forma mais efetiva de prevenção da sepse por esse agente. Porém, torna-se dispendioso o rastreamento universal quando comparado a conduta de identificação dos fatores de risco obstétricos (CAETANO,2008).

Para a detecção do EGB por meio de cultura de amostra vaginal e anorretal são utilizados meios seletivos com adição de antimicrobianos para maior sensibilidade da metodologia. Há um aumento na sensibilidade da cultura, pois os antimicrobianos inibem o crescimento da flora saprófita, tanto do intróito vaginal quanto da região anorretal, impedindo o crescimento de bactérias diferentes daquela que está sendo pesquisada. O inóculo direto da amostra em meio

enriquecido como ágar sangue pode apresentar resultados falso-negativos não sendo indicada para cultura de EGB.

Deve-se ressaltar que, após 2002, com a recomendação do rastreamento universal da colonização pelo EGB houve redução de 33% na incidência da doença invasiva de início precoce nos Estados Unidos (CAETANO, 2008)

Vários países ainda não adotam o protocolo de assistência pré-natal proposto pelo CDC, inclusive o Brasil. Porém, várias regiões do país já estão atentando sobre a gravidade do problema e o quanto é importante a implementação do teste de detecção deste microrganismo em gestantes, principalmente aquelas de alto risco obstétrico, para prevenção das doenças invasivas e garantia da saúde do neonato.

1.8 Profilaxia antimicrobiana pelo *S. agalactiae*

A identificação das gestantes colonizadas pelo EGB, mediante rastreamento universal, associada à adoção de antibióticos no momento do parto são as medidas preventivas atualmente preconizadas (SCHRAG *et al.*, 2000 *apud* CAETANO, 2008).

A quimioprofilaxia preventiva da doença precoce do neonato pelo EGB tem como droga de escolha a penicilina G intravenosa, sendo ampicilina uma alternativa aceitável. No caso de pacientes alérgicas a penicilina, é recomendado o uso de clindamicina ou eritromicina e, no caso de resistência a ambos, de vancomicina (CDC, 2002 *apud* BORGER, 2005, p. 25).

Existem riscos potenciais decorrentes da antibioticoprofilaxia. A anafilaxia é um evento raro. A resistência do estreptococo aos antibióticos habitualmente empregados (penicilina ou ampicilina) ainda não foi observada, mas já foi detectada com as alternativas para os pacientes alérgicos (eritromicina ou clindamicina). Nestes casos, inicialmente deve-se avaliar o risco para anafilaxia, que depende da intensidade da reação prévia (angioedema ou urticária) e concomitância de outros fenômenos alérgicos (asma). Quando o risco é alto, tem sido recomendado o uso da cefazolina, pois de acordo com o NCCLS, a sensibilidade a este agente pode ser inferida a partir da sensibilidade a penicilina e a incidência de reações cruzadas entre estas drogas é aproximadamente 10%. A vancomicina deve ser reservada apenas para parturientes comprovadamente alérgicas e com cepas resistentes a clindamicina ou eritromicina. O aumento

da incidência de sepse neonatal por microrganismos resistentes aos antibióticos empregados parece, até o momento, estar restrito aos recém-nascidos de muito baixo peso mas é um fenômeno que exige vigilância constante (FERNANDES, [200?]).

Portanto, a utilização de antimicrobianos para profilaxia e tratamento da doença causada pelo EGB deve ser feita de modo responsável a fim de se evitar resistência do microrganismo por tais medicamentos.

2 PACIENTES E MÉTODOS

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de corte transversal e de caráter hipotético-dedutivo.

2.2 População estudada

Neste estudo foram avaliadas 22 gestantes entre 35 a 37 semanas de gestação, atendidas no Núcleo de Apoio Materno Infantil do Hospital Regional de Varginha (Alto Risco), no período de Maio à Julho de 2008. A enfermeira responsável pelo núcleo se responsabilizou em preencher as fichas de dados (Anexo 1) de cada paciente sendo que todas as gestantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) concordando em participar da pesquisa após terem sido informadas sobre todos os procedimentos e objetivos do projeto. Todas elas tiveram o direito de não aderirem ao estudo sem que isso prejudicasse seu atendimento. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Alfenas-UNIFENAS.

As gestantes atendidas no Alto Risco possuíam algum fator de risco para a gestação e eram encaminhadas ao Núcleo para que maior atenção fosse dada ao pré-natal afim de se prevenir possíveis complicações tanto ao feto quanto à gestante.

Foram excluídas as gestantes que não aceitaram participar do estudo e aquelas que haviam feito uso de antimicrobianos há menos de duas semanas.

2.3 Coleta das amostras para cultura

A coleta das amostras foi realizada pelo obstetra atuante no alto risco, utilizando-se dois *swabs* estéreis, um para intróito vaginal e outro para região perianal. As amostras foram obtidas antes da utilização de espéculo e sem a realização de antisepsia perianal.

Imediatamente após a coleta, os *swabs* foram colocados em tubos contendo 3,0 ml do meio de cultura seletivo e enriquecedor Todd- Hewitt (Difco) suplementado com 8 µg/ml de gentamicina e 15 µg/ml de ácido nalidíxico.

Os tubos contendo os *swabs* foram transportados, em temperatura ambiente, ao setor de microbiologia do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini (IPD). O tempo transcorrido entre a coleta das amostras e a entrada no laboratório foi, em média, 5 horas sendo que o tempo gasto para o transporte dos tubos contendo a amostra foi de, no máximo, 1 hora. Os *swabs* foram retirados dos tubos após abertura dos mesmos em capela de fluxo laminar. Logo após, os tubos foram incubados por 24 horas em estufa a 37°C (Figura1).

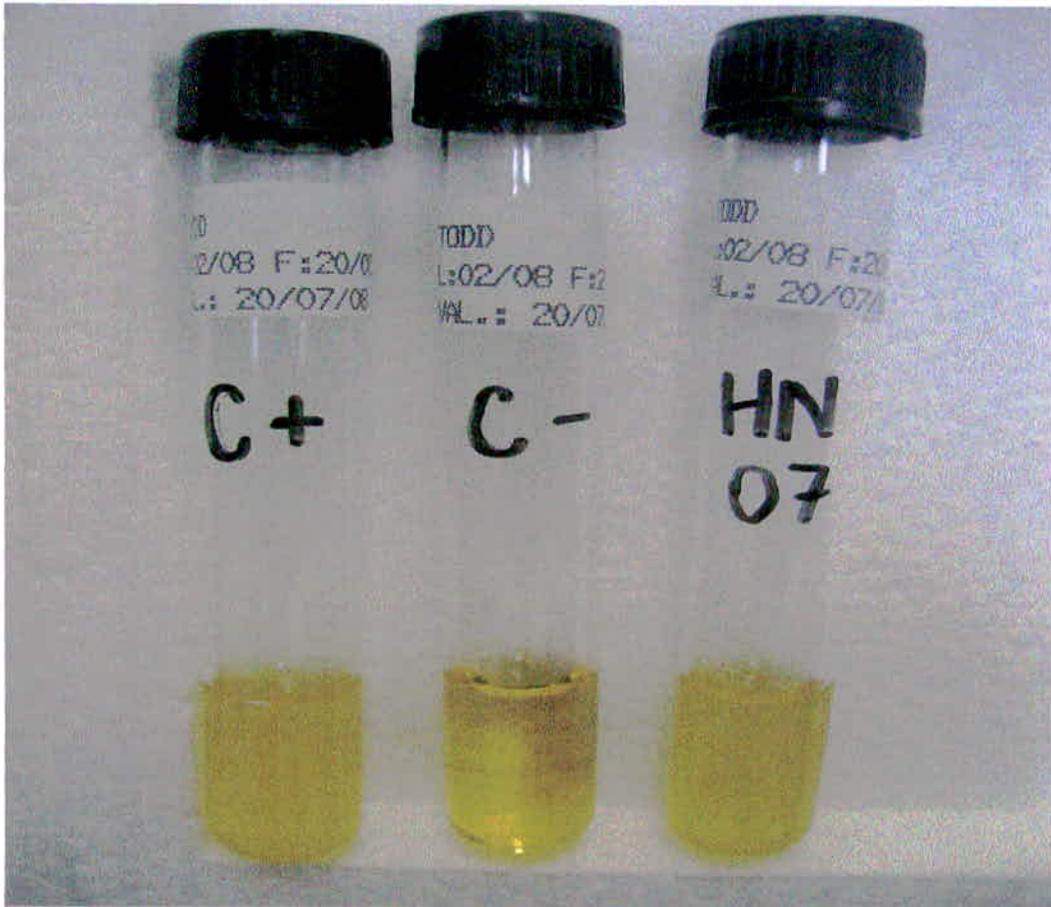


Figura 01- Tubos contendo meio Todd-Hewitt após inoculação de material clínico com observação da turbidez do tubo após 24 horas de incubação conforme controle negativo (C-) e controle positivo (C+), Setor de Microbiologia do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini, 2008.

2.4 Isolamento e identificação presuntiva do EGB

Transcorrido o período de incubação, o material dos tubos foi semeado pela técnica semiquantitativa em ágar sangue, acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro, para

crescimento e isolamento dos microrganismos existentes na amostra. Após a semeadura, as placas foram incubadas por 24 horas em estufa a 37°C.

As colônias sugestivas de serem EGB, acinzentadas, pequenas, circundadas por halo discreto de hemólise total (β -hemólise) ou não-hemolíticas, foram submetidas à coloração pelo método de Gram e prova da catalase. As colônias de cocos Gram-positivos dispostos em cadeias ou aos pares e catalase negativos foram subcultivadas em ágar-sangue de carneiro a 5%.



Figura 02- Disposição de cocos Gram-positivos sugestivos da família Streptococcaceae após coloração de Gram, Setor de Microbiologia do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini, 2008.

Após a obtenção da colônia pura, os estreptococos isolados da amostra foram testados quanto a produção do fator CAMP, a produção de Hipuricase pelo teste de hidrólise do hipurato e a susceptibilidade aos antimicrobianos Sulfazotrim (25 μ g) e Bacitracina (0,04 μ g).

Os microrganismos positivos para a prova de CAMP, para a hidrólise do Hipurato e resistentes aos antibióticos Sulfazotrim e Bacitracina foram identificados, presuntivamente, como Estreptococos do grupo B.



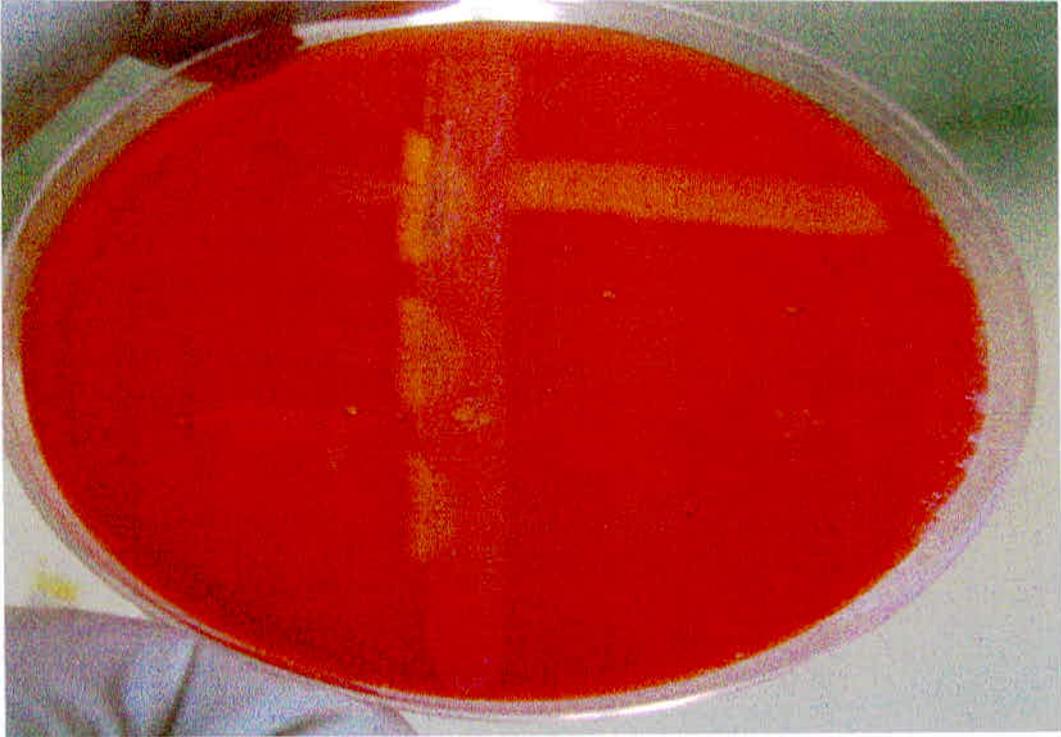


Figura 03- Teste de CAMP positivo para duas amostras clínicas conforme controle na última estria à esquerda feita perpendicularmente à *Staphylococcus aureus* e controle negativo à direita, Setor de Microbiologia do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini, 2008.

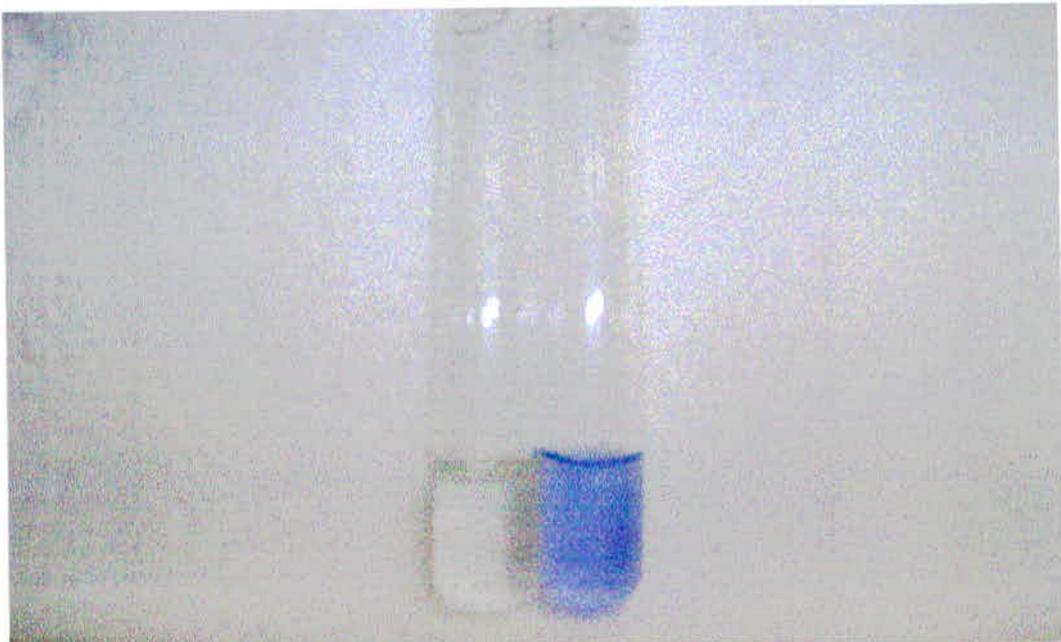


Figura 04 – Teste da Hidrólise do Hipurato positivo para uma amostra clínica com aparecimento de coloração roxa e controle negativo, Setor de Microbiologia do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini, 2008.

2.5 Dados clínicos das pacientes

A obtenção dos dados clínicos das gestantes foi realizada momentos antes da consulta de pré-natal da paciente pela enfermeira chefe do Núcleo de Apoio Materno Infantil do Hospital Regional de Varginha- MG (NAMI). Os dados pesquisados foram: idade, número de abortos, número de gestações, diabetes, hipertensão, auto-imunidade, prematuridade, rompimento precoce de membrana e febre durante o parto (Anexo 1).

2.5 Análise dos dados

Todas as informações clínicas bem como os resultados obtidos no estudo foram digitados em um banco de dados, utilizando-se o programa *Microsoft Excel*.

Para análise estatística da relação entre as variáveis pesquisadas e a colonização pelo EGB utilizou-se o teste exato de Fisher em tabelas 2x2 sendo consideradas significativas aquelas relações em que p fosse menor que 0,05 ($p < 0,05$). O teste exato de Fisher permite calcular a probabilidade de associação das características que estão em análise, ou seja, a probabilidade de tais características serem independentes, quando o número total de dados é pequeno.

3 RESULTADOS

No presente estudo, avaliaram-se 22 gestantes que realizavam acompanhamento pré-natal no Núcleo de Apoio Materno Infantil do Hospital Regional (NAMI) do município de Varginha-MG. As gestantes avaliadas possuíam idade gestacional entre 35 a 37 semanas com fatores de risco para a gestação. O NAMI atende gestantes tanto encaminhadas de postos de saúde espalhados pelos bairros do município quanto gestantes que, particularmente, procuram o núcleo por possuírem algum fator de risco, realizando sua primeira consulta no NAMI e todo o seu acompanhamento pré-natal.

A faixa etária obtida, após análise dos dados, variou de 14 a 42 anos, com média de idade de 26,5 anos ($\pm 2,65$ anos).

Os estreptococos do grupo B foram isolados em 6 das 22 amostras analisadas, tendo prevalência de 27% da população estudada (Figura 05).

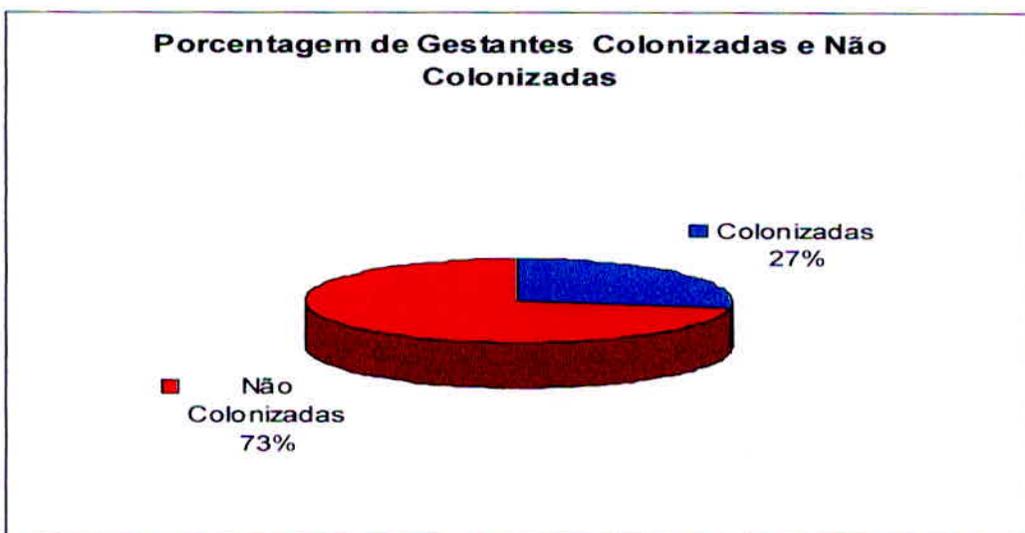


Figura 05 – Porcentagem de gestantes colonizadas e não-colonizadas.

A análise dos fatores de risco encontrados para a gestação demonstrou que todas as gestantes com positividade para o EGB possuíam mais de 21 anos e eram multigestas embora estas diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. Das 6 gestantes positivas nenhuma apresentava fatores de risco como diabetes, autoimunidade e febre durante o parto.

A avaliação dos fatores de risco em gestações anteriores não se aplicou às 6 gestantes primigestas (37,5%) não realizando, desta forma, análise estatística de tais fatores desta determinada população.

Tabela 01 - Colonização pelo EGB

Variável avaliada	Sim (6)		Não (16)		valor de p
	N	%	n	%	
Idade					
< 21 anos	0	0%	5	31,25	0,1659
≥ 21 anos	6	100%	11	68,75	
Número de gestações					
Primigesta	0	0%	6	37,5	0,1073
Multigesta	6	100%	10	62,5	
Aborto					
Nenhum	4	66,6	12	75	0,3659
Ao menos 1	2	33,3	4	25	
Diabetes					
Sim	0	0	0	0	1,0000
Não	6	100	16	100	
Hipertensão					
Sim	2	33,3	6	37,25	0,3756
Não	4	66,6	10	62,5	
Auto- imunidade					
Sim	0	0	0	0	1,0000
Não	6	100	16	100	
Prematuridade					
Sim	1	16,6	1	6,25	0,4853*
Não	5	83,3	9	56,25	
Rompimento precoce					
Sim	1	16,6	1	6,25	0,5000*
Não	5	83,3	9	56,25	
Febre durante o parto					
Sim	0	0	1	6,25	0,6250*
Não	6	100	9	56,25	

* Das 22 gestantes analisadas, 6(37,5%) estavam em sua primeira gestação, não se aplicando o questionário sobre fatores de risco em gestações anteriores às mesmas. (p<0,05)

Tabela 01 - Colonização pelo EGB

Das gestantes com cultura positiva para o EGB, 4 (66,6%) não sofreram aborto em gestações anteriores e apenas 1 (16,6%) sofreu rompimento precoce de membrana e prematuridade. Observou-se, também, que 2 (33,3%) das mulheres colonizadas apresentavam hipertensão. Todavia, não houve diferenças entre as mulheres colonizadas e não colonizadas com relação à história obstétrica e outros antecedentes avaliados.

A utilização de pelo menos um fator de risco como indicador de colonização materna não demonstrou bom desempenho mostrando-se necessária a utilização da cultura como indicador preciso da colonização pelo EGB para rastreamento das gestantes colonizadas como demonstrado na tabela a seguir.

Tabela 02- Correlação entre a presença de fatores de risco e a colonização materna pelo EGB

Pelo menos 1 fator de risco	Sim (6)		valor de p
	Sim	Não	
Presente	4	8	0,2985
Ausente	2	8	

* Idade (anos) e número de gestações não avaliados.

($p < 0,05$)

Tabela 02 - Correlação entre a presença de fatores de risco e a colonização materna pelo EGB

Assim, a análise das variáveis através do Teste Exato de Fisher demonstrou que nenhuma variável avaliada foi estatisticamente significativa.

4 DISCUSSÃO

Com o objetivo de verificar a ocorrência de colonização por EGB em grávidas atendidas em um ambulatório pré-natal de alto risco, foram avaliadas 22 gestantes no período de Maio a Julho de 2008 e os resultados obtidos de cada paciente foram notificados ao corpo médico do ambulatório.

A maior relevância médica dos estreptococos do grupo B está, principalmente, relacionada a casos de sepse, pneumonia e meningite em neonatos. Por colonizar o trato vaginal e gastrointestinal de modo, muitas vezes, intermitente e sem causar sintomas, as gestantes colonizadas pelo EGB podem vir a contaminar seus filhos no momento do parto. Logo, é de fundamental importância a detecção deste microrganismo nas gestantes a fim de se evitar possíveis complicações ao neonato.

Segundo a literatura, são duas as maneiras de se pesquisar o EGB antes que o mesmo venha causar doenças: pesquisar fatores de risco clínicos e estudar a prevalência da colonização em gestantes com culturas vaginais e anorretais durante o pré-natal e em situações de risco, como as avaliadas neste estudo.

Várias pesquisas já apontam a necessidade de implementação do teste de detecção do EGB nas gestantes e defendem a prevenção da colonização neonatal como a principal forma para a redução desta grave intercorrência (SCHUCHAT *apud* CAETANO, 2008).

O rastreamento universal e a profilaxia da infecção pelo EGB propostos pelo CDC em parceria com o *College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) e *American Academy of Pediatrics* foram fundamentais para padronização da metodologia para detecção do EGB.

“Acredita-se que aproximadamente de 10 a 30% das gestantes apresentam-se colonizadas pelo EGB quer no sítio vaginal, quer na região anorretal” (REGAN *apud* CAETANO, 2008, p. 36). A prevalência da colonização pelo EGB pode sofrer vários tipos de variações, sendo estas influenciadas pela idade, número de gestações, quadro clínico da paciente, meios de cultura e metodologia utilizados.

Neste estudo, evidenciou-se uma prevalência de 27,2% de parturientes colonizadas pelo EGB. Este resultado é condizente com a literatura nacional, respeitando-se as características da população avaliada (gestantes com alto risco para a gestação) bem como a metodologia empregada. A frequência de colonização encontrada é superior à obtida por Pogere (2005), de

21,6%, por Nomura (2004), de 14,6%, por Borger (2005), de 19,2%, Caetano (2008), de 15% e Alves (2005), de 14,6%. A alta prevalência encontrada, no presente estudo, pode ser justificada pelo tipo de população estudada, por se tratarem de gestantes de alto risco para a gestação.

A preconização do período de gestação de 35 a 37 semanas pelo CDC, em 2002, possibilitou uma padronização do tempo gestacional para realização da cultura para o EGB. Desta forma, foram avaliadas apenas as gestantes que se encontravam no período gestacional preconizado para a detecção do microrganismo.

A metodologia utilizada neste estudo empregou 2 *swabs*, um para coleta de sítio vaginal e outro para coleta de sítio perianal. A coleta de amostra em sítios duplos aumenta a sensibilidade da cultura já que o microrganismo pode ser isolado tanto de amostras retais quanto vaginais. Todavia, o manejo clínico da paciente independe do local de identificação do EGB. Logo, qualquer sítio que se apresentar positivo para o microrganismo implicará em medidas de profilaxia antimicrobiana no momento do parto.

A utilização do meio Todd-Hewitt, recomendada pela literatura para seleção e crescimento do EGB, possibilitou maior sensibilidade aos testes. A suplementação de antimicrobianos ao caldo permitiu o maior crescimento do microrganismo desejado diminuindo a multiplicação de bactérias presentes na microbiota normal da gestante. Os antimicrobianos utilizados no presente estudo, Gentamicina (8 µg/ml) e Ácido Nalidíxico (15 µg/ml), são os de escolha para a maioria das pesquisas relacionadas à detecção do EGB e apontados como eficazes na minimização do crescimento de outros microrganismos relacionados a flora saprófita vaginal e anorretal da gestante.

A inoculação direta dos *swabs* com o material clínico no meio seletivo Todd-Hewitt mostra maior sensibilidade se comparada a estudos que utilizaram um meio de transporte (como Stuart ou Amies) para a inoculação dos *swabs*. Esta maior sensibilidade é evidenciada devido ao fato que tais estudos detectaram baixas taxas de prevalência nas gestantes analisadas (ALVES, 2005).

As variáveis avaliadas neste estudo como idade, paridade, abortos e outros fatores de risco à gestação são importantes para determinação de um perfil epidemiológico de risco para a colonização materna pelo EGB. Assim, tais variáveis foram analisadas afim de se determinar uma relação de positividade da bactéria com a presença ou não de fatores de risco à gestante.

A análise dos fatores de risco relacionados à colonização pelo *S. agalactiae* demonstrou que nenhuma das variáveis analisadas foi estatisticamente significativa. Logo, o rastreamento seletivo somente através da presença de fatores de risco à gestante não seria útil para a seleção de um grupo específico de gestantes provavelmente colonizadas.

Vários são os estudos que evidenciaram a não relação entre os fatores de risco à gestação e a positividade para o EGB. O maior destes, desenvolvido pelo grupo intitulado *Vaginal Infections and prematurity Study Group*, com amostragem de 7.742 mulheres, demonstrou que a análise apenas dos fatores de risco clínicos não pode ser utilizada de forma isolada para a detecção do EGB (NOMURA, 2004). A utilização deste tipo de rastreamento como forma de diagnóstico do microrganismo e posterior realização de antibioticoprofilaxia faz com que gestantes não colonizadas acabem sendo medicadas de forma desnecessária. Num ambiente hospitalar, em que a resistência microbiana é constante preocupação, a medicação desnecessária é agente fundamental para o desenvolvimento de graves infecções nosocomiais.

Portanto, a detecção do microrganismo para a análise da colonização materna através da cultura é fundamental para o tratamento antimicrobiano adequado. Para isso, a metodologia laboratorial deve estar condizente com àquela preconizada pelo CDC em que a sensibilidade se encontra aumentada bem como a especificidade do teste realizado.

“A idade materna menor que 20 anos foi referida como fator epidemiológico favorável à colonização pelo EGB” (SCHCHAT, 1990 *apud* CAETANO, 2008, p. 39). Este fator pode ser explicado pela correlação entre concentração de anticorpos maternos e idade materna.

Neste estudo, não detectamos diferenças estatísticas significativas ao comparar a frequência da colonização com a faixa etária e o número de gestações embora todas as gestantes colonizadas fossem multigestas e maiores de 21 anos. Este resultado é semelhante ao encontrado por Caetano (2008) e Pogere (2005), que não conseguiram determinar a relação de positividade entre número de gestações e colonização pelo EGB (CAETANO, 2008), por Pellegrini (1998), que observou maior frequência de colonização em multigestas assim como Hammoud e colaboradores (2002), em que gestantes com dois ou mais partos se encontravam com maior frequência de colonização pelo EGB. Entretanto, Rosa (2002), observou maior positividade em gestantes primigestas e Grimwood e colaboradores (2002), encontraram maior risco de colonização em gestantes mais jovens (BORGER, 2005).

“A ocorrência de aborto prévio é fator relacionado à colonização pelo EGB” (ADAMS *et al.*, 1993 apud CAETANO, 2008, p. 40). Este fator de risco foi avaliado e os resultados obtidos não foram estatisticamente significativos.

Também não foram significantes as diferenças de colonização quando comparadas em relação à ocorrência de prematuridade em gestações anteriores, febre durante o parto e ruptura precoce de membrana. Resultado semelhante foi encontrado por Alves (2005), que não conseguiu relacionar estatisticamente maior colonização materna com tais achados clínicos (ALVES, 2005).

A presença da ruptura precoce de membrana como fator de risco se justifica pelo fato de que o EGB pode estar relacionado à fisiopatologia da ruptura das membranas por ativação de processos inflamatórios, produção de proteases, colagenases, radicais livres e prostaglandinas (ROMERO *et al.*, 2002 apud NOMURA, 2004).

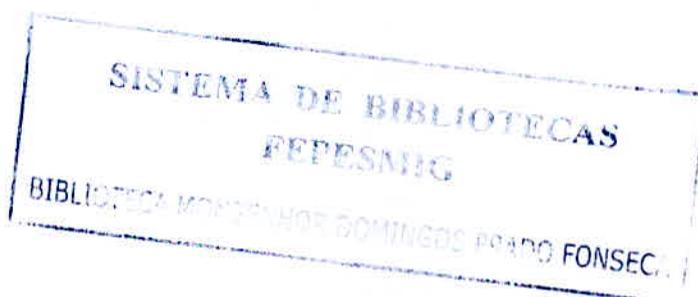
“As gestantes diabéticas parecem ter uma maior frequência de colonização por *S. agalactiae* quando comparadas com gestantes não diabéticas” (RAMOS *et al.*, 1997 apud BORGER, 2005, p. 46). Porém, a análise estatística realizada através do teste exato de Fisher mostrou não haver relação entre estes fatores. Resultados como este foram obtidos por Borger (2005), Piper *et al.* (1999) e Hammoud *et al.* (2002). Contrariando tais resultados Ramos e Colaboradores detectaram maior incidência do microrganismo em gestantes diabéticas assim como Stamler e Colaboradores (1990) (BORGER, 2005). Essa não relação pode ser justificada pelo fato que nenhuma gestante avaliada era diabética tendo o estudo uma amostragem pequena em relação a este fator de risco.

Quanto aos fatores de risco hipertensão e autoimunidade nenhum destes foi estatisticamente relacionado à colonização materna pelo *S. agalactiae*. Das 6 gestantes com cultura positiva para o EGB, 2 (33,3%) apresentavam hipertensão e nenhuma delas possuía doença auto-imune. Na literatura nacional são vários os estudos que não conseguiram estabelecer relação estatística entre a presença destes fatores com a frequência de colonização materna pelo microrganismo.

A frequência da colonização por *S. agalactiae* (27,7%) elevada entre as gestantes atendidas no Núcleo de Atenção Materno Infantil do Hospital Regional de Varginha apontam a necessidade de implementação do teste de detecção do EGB na rotina de pré-natal e vêm alertar toda a classe médica da real importância deste microrganismo no desenvolvimento da doença neonatal. A avaliação da prevalência do EGB nas gestantes possibilita, além do conhecimento

acerca da positividade existente nas gestantes do município, a adoção de um esquema profilático adequado àquela determinada população.

A limitação da amostragem, encontrada neste estudo, se deve, em grande parte, ao curto período gestacional preconizado para a coleta das amostras dificultando a obtenção de material clínico para análise. Também, pelo fato de que os obstetras responsáveis pela coleta não estavam envolvidos diretamente na pesquisa sendo esta desenvolvida em um período restrito de apenas três meses.



CONCLUSÃO

Pelo presente estudo ter encontrado alto índice de prevalência da colonização pelo EGB e não ter relacionado estatisticamente os fatores de risco clínicos presentes nas gestantes com a positividade materna pelo EGB, observa-se que é de fundamental importância a implementação de estratégias profiláticas baseadas na cultura para detecção do *S. agalactiae* para que gestantes não colonizadas não sejam tratadas desnecessariamente levando a uma resistência bacteriana.

A padronização de uma metodologia para identificação do EGB é fundamental para que todos os testes de detecção do *S. agalactiae* sejam executados de forma correta e precisa. A utilização do meio seletivo Todd-Hewitt, suplementado com antimicrobianos, possibilitou o crescimento apenas do microrganismo em questão aumentando a sensibilidade dos testes e facilitando a obtenção de colônias puras já nos primeiros inóculos.

Por utilizar testes presuntivos para a identificação do *S. agalactiae*, a metodologia empregada se torna viável para serviços de saúde que dependem de verbas públicas, pois os custos dos testes são relativamente baratos se comparados à detecção baseada na sorologia.

Através de dados e estudos confiáveis, que apontem a realidade da prevalência do EGB e do problema real que este microrganismo causa em termos de saúde pública surge, a partir destes resultados, mais uma contribuição para enfatizar a necessidade da detecção do microrganismo no exame de pré-natal e implementação de medidas preventivas para a diminuição da sepse neonatal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Valéria Moraes Neder. **Prevalência e fatores associados à colonização retal e vaginal pelo Estreptococo do Grupo B em parturientes e suas características fenotípicas**. 2005. Dissertação (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

BERALDO, Cláudio *et al.* Prevalência da colonização vaginal e anorretal por estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, vol.26, n.7, 2004.

BORGER, Irina Lermontov *et al.* Streptococcus agalactiae em gestantes: prevalência de colonização e avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, vol.27, n. 10, 2005.

_____. **Estudo da colonização por Streptococcus agalactiae em gestantes atendidas na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro**. 2005. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005.

CAETANO, Mário Sérgio Silva Gomes. **Colonização pelo Streptococcus agalactiae (EGB) em gestantes atendidas na rede pública de Uberaba-MG**. 2008. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2008.

COSTA, H. P. F. *et al.* Prevenção da doença perinatal pelo Estreptococo do grupo B. **Sociedade Brasileira de Pediatria**. Disponível em: <http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=24&id_detalhe=2221&tipo_detalhe=s>. Acessado em: 20 jun. 2008.

FERNANDES, A. T. **Guia CDC para prevenção de doença perinatal pelo estreptococo do grupo B**. Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/estrepto-grupob.html>>. Acessado em: 02 jun. 2008.

KONEMAN, Elmer W *et al.* **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

MURRAY, P. R. *et al.* **Microbiologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NOMURA, Marcelo Luís. **Colonização materna e neonatal por estreptococo do grupo B em gestantes com trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas**. 2004. Dissertação (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PINHEIRO, Rossiclei de Souza *et al.* Estudo dos fatores de risco maternos associados à sepse neonatal precoce em hospital terciário da Amazônia brasileira. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 8, 2007.

- POGERE, Adriane *et al.* Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, 2005.
- REQUEJO, H. I. Z. Infecção neonatal precoce causada por Estreptococos do grupo B (*Streptococcus agalactiae*). **Revista Laes e Haes**, São Paulo, ed. 149, 2004.
- SIMÕES, José Antonio *et al.* Influência do conteúdo vaginal de gestantes sobre a recuperação do estreptococo do grupo B nos meios de transporte *Stuart e Amies*. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 11, 2005 .
- TORTORA, J. G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2002.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Prevalência da colonização por estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal conveniado ao Sistema Único de Saúde.

Pesquisadores responsáveis:

Natália Peloso Silva – Aluna do curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas

Karen Shelen Bueno – Co orientadora professora do Centro Universitário do Sul de Minas e bioquímica do Instituto de Prevenção e Diagnóstico J. Janini – Laboratório IPD.

Eronidina Leal Barbosa – Professora Centro Universitário do Sul de Minas e coordenadora da pesquisa.

Nome da voluntária: _____

Idade: _____ anos R.G.: _____

Responsável legal (se necessário): _____

R.G. do responsável legal: _____

A Sra. está sendo convidada a participar do projeto de pesquisa "Prevalência da colonização por estreptococo do grupo B em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal conveniado ao Sistema Único de Saúde" da responsabilidade da pesquisadora Karen Shellen Bueno.

Eu, _____, abaixo assinado, declaro ter pleno conhecimento do que se segue:

1. Que o objetivo da pesquisa é detectar bactérias que podem provocar infecções no neonato;
2. Que será necessário utilizar um cotonete para obtenção de materiais da vagina e ânus;
3. Que este procedimento não causará nenhum risco, desconforto ou dano a minha saúde, e que posso desistir da participação do mesmo em qualquer etapa da pesquisa;
4. Que os resultados desta pesquisa irão trazer benefícios ao neonato pois permitirá implementar as medidas que o médico achar necessárias para controlar a infecção e proteger o neonato;
5. Qua toda dúvida que tiver será esclarecida pelos responsáveis deste estudo através do telefone: (35) 8837-9183; (35) 3212-7670
6. Que em nenhum momento será utilizado ou revelado o meu nome.

Varginha, ____ de _____ de 2008.

Assinatura do pesquisador

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Ou

Eu, _____, RG nº _____, responsável legal por _____, RG nº _____, declaro ter sido informado e concordo com a sua participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito.

Assinatura da paciente () ou responsável ()

Assinatura do médico



ANEXO 1 - FICHA DE DADOS DAS PACIENTES AVALIADAS

Nome:		
Idade:	Raça:	Prontuário:
Tempo gestacional:		
Número de gestações:		
Número de abortos:		
<u>Doenças pré- existentes:</u>		
- Diabetes () SIM () NÃO		
- Hipertensão () SIM () NÃO		
- Doenças autoimunes () SIM () NÃO		
- Outras: especificar		
<u>Fatores de risco em gestações anteriores:</u>		
- Prematuridade: () SIM () NÃO		
- Rompimento precoce de membrana: () SIM () NÃO		
- Febre durante o parto: () SIM () NÃO		