MARCELO LUÍS NOMURA

COLONIZAÇÃO MATERNA E NEONATAL POR ESTREPTOCOCO DO GRUPO B EM GESTANTES COM TRABALHO DE PARTO PREMATURO E/OU RUPTURA PREMATURA PRÉ-TERMO DE MEMBRANAS

Tese de Doutorado

ORIENTADOR: Prof. Dr. RENATO PASSINI JÚNIOR

UNICAMP
2004

MARCELO LUÍS NOMURA

COLONIZAÇÃO MATERNA E NEONATAL POR ESTREPTOCOCO DO GRUPO B EM GESTANTES COM TRABALHO DE PARTO PREMATURO E/OU RUPTURA PREMATURA PRÉ-TERMO DE MEMBRANAS

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tocoginecologia, área de Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. RENATO PASSINI JÚNIOR

UNICAMP
2004

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

N729c

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 / Marcelo Luís Nomura. Campinas, SP : [s.n.], 2004.

Orientador : Renato Passini Júnior
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Gravidez. 2. Prevalência. 3. Complicações na gravidez . 4. Streptococcus agalactiae. 5. Trabalho de parto prematuro. 6. Ruptura prematura de membranas fetais. I. Renato Passini Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: MARCELO LUÍS NOMURA

Orientador: Prof. Dr. RENATO PASSINI JÚNIOR

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 14/12/2004

Dedico esta tese
A minha irmã Renata e
Ao meu irmão Rodrigo
Pelo companheirismo
Pela amizade verdadeira e
Pelo amor incondicional
demonstrado ao longo dos anos.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, que através de Jesus Cristo, mostrou-me o Caminho, a Verdade e a Vida.

À minha mãe Lucilla, que não se cansa de me amar e perdoar.

Ao meu pai Hitoshi, que me proporcionou todas as condições desde a minha infância para que o sonho da carreira acadêmica se tornasse realidade.

Ao meu orientador Professor Doutor Renato Passini Júnior, que com firmeza, mas com amizade, mostrou-me que seriedade, honestidade e responsabilidade são o caminho para atingir grandes metas.

Ao meu co-orientador Professor Doutor Ulysses Moraes Oliveira que abriu as portas para uma visão diferente da Obstetrícia, que não mais será a mesma a partir de hoje.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Petta e ao Prof. Dr. Luis Guillermo Bahamondes, pela boa vontade que fez com que este trabalho pudesse ser realizado através do auxílio financeiro da Comissão de Pós-Graduação do Departamento de Tocoginecologia.

A todos os docentes e médicos contratados da área de Obstetrícia, pelo apoio a este projeto, sem o qual não poderia ter sido realizado.

À Prof.ª Dr.ª Mary Ângela Parpinelli, Prof.ª Dr.ª Helaine Milanez e Prof.ª Dr.ª Egle Couto, que com carinho me mostraram, no exame de qualificação, o caminho a seguir na realização deste trabalho.

A todos os docentes e médicos contratados da área de Neonatologia, em especial à Prof.ª Dr.ª Roseli Calil.

Ao setor de Microbiologia do Departamento de Patologia Clínica, responsável pela realização de todos os exames, em especial a Sra. Marizete.

À Conceição e à Kátia, secretárias da Obstetrícia.

À Margarete Donadon, secretária da Comissão de Pós-Graduação.

À Sra. Sueli Chaves pela ajuda inestimável na editoração desta tese.

A todos os médicos residentes do Departamento de Tocoginecologia, cuja participação foi fundamental na linha de frente de atendimento às gestantes participantes.

À Nancy Vanessa Paranhos e Soraia Mafra, acadêmicas do 6º. ano de Medicina, cujo papel na árdua e muitas vezes entediante tarefa de coleta dos dados mostrou a seriedade e responsabilidade com que certamente desempenharão a profissão médica.

A todas as gestantes e seus recém-nascidos, para os quais não medirei esforços na tarefa de fazer da gravidez e parto a celebração da vida e que são o motivo de nossa existência como obstetras.

"Em todo o tempo ama o amigo e na angústia se faz o irmão"

Provérbios 17:17

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas ..... **xv**
Resumo ..... **xvii**
Summary ..... **xix**
1. Introdução **21**
2. Objetivos **35**
2.1. Objetivo geral 35
2.2. Objetivos específicos 35
3. Publicações **37**
3.1. Artigo 1 38
3.2. Artigo 2 56
4. Discussão **73**
5. Conclusões **89**
6. Referências Bibliográficas **93**
7. Bibliografia de Normatizações **107**
8. Anexos **109**
8.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Pós-Informação 109
8.2. Anexo 2 – Sujeitos e Métodos 111
8.3. Anexo 3 – Protocolo de Atendimento 119
8.4. Anexo 4 – Metodologia de Processamento das Culturas 120
8.5. Anexo 5 – Critérios Diagnósticos de Infecção Neonatal 121
8.6. Anexo 6 - Ficha de Coleta de Dados 122
8.7. Anexo 7 – Proposta de Conduta (SCHRAG et al., 2002) 123
8.8. Anexo 8 - Parecer do Comitê de Ética 125

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ACOG	Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CDC	*Centers for Disease Control and Prevention*
EGB	Estreptococo do Grupo B
IC	Intervalo de Confiança
p	Significância Estatística
RN	Recém-Nascido
RPPTM	Ruptura Prematura Pré-termo de Membranas
RR	Risco Relativo
RRA	Risco Relativo Ajustado
TPP	Trabalho de Parto Prematuro
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Objetivos: Identificar a taxa de prevalência e fatores de risco de colonização materna por estreptococo do grupo B (EGB) em gestantes com trabalho de parto prematuro (TPP) e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas (RPM). **Métodos:** Foram colhidos dois *swabs* anais e vaginais de 203 gestantes atendidas no CAISM-UNICAMP. Um *swab* de cada local foi colocado em meio de transporte e enviados para cultura em placas de ágar-sangue, os outros dois foram incubados por 24 horas em meio de Todd-Hewitt para posterior semeadura em placas de ágar-sangue. **Resultados:** A prevalência de colonização materna por EGB foi de 27,6% (56 gestantes). As taxas de colonização por diagnóstico foram 34,7% para RPM, 25,2% para TPP e 17,8% para TPP + RPM. As variáveis raça branca, baixo nível de escolaridade e infecção urinária foram associadas a maiores taxas de colonização na análise multivariada. A presença de infecção urinária foi a única variável significativamente associada à colonização materna na análise multivariada. A taxa de detecção do estreptococo do grupo B foi significativamente maior com o uso do meio seletivo e com a associação de coleta de culturas anais e vaginais. A taxa de colonização neonatal foi de 3,1%. Ocorreram dois

casos de sepse precoce por EGB nesta amostra, com prevalência estimada de 10,8 casos por mil nascidos vivos e mortalidade de 50%. **Conclusão:** A amostra avaliada apresenta altas taxas de colonização materna por *Streptococcus agalactiae*. É necessário o uso de meio de cultura seletivo e a associação de culturas anorretais e vaginais para aumentar a taxa de detecção do EGB. A incidência de sepse neonatal precoce foi elevada nesta população.

Summary

Objective: to study group B streptococcus maternal colonization rates and risk factors in women with preterm labor (PTL) and preterm premature rupture of membranes (PROM). **Methods:** Vaginal and anal swabs (two of each) were colected from 203 women followed at CAISM-UNICAMP. One of each swab was placed in transport media and then cultured in blood-agar plates, the other swabs were incubated in Todd-Hewitt selective media for 24 hours and then subcultured in blood-agar plates. **Results:** Maternal colonization rate was 27.6% (56 women). Colonization rates by admission diagnosis were 34.7% in PROM, 25.2% in PTL and 17.8% in PTL and PROM. White race, less than elementary education level and urinary tract infection were associated with maternal colonization in the univariate analysis. Urinary tract infection was the only variable associated with maternal colonization in a multivariate analysis. GBS detection rates were significantly higher with the use of selective culture media and with sampling of both vaginal and anorectal sites. Neonatal colonization rate was 3.1%. There were two cases of early-onset neoanatal sepsis caused by GBS, with an estimated prevalence of 10.8 cases per thousand live borns and a mortality rate

of 50%. **Conclusions:** This sample of women had high GBS colonization rates. The use of selective culture media and collection of both anal and vaginal samples is necessary in order to maximize GBS detection rates. Early-onset neonatal sepsis incidence was high in this population.

Key words: prematurity, group B streptococcus, complications of pregnancy, preterm premature rupture of membranes, preterm labor.

1. Introdução

O *Streptococcus agalactiae* (Estreptococo do Grupo B) é um diplococo gram positivo encapsulado, reconhecido inicialmente como uma bactéria comensal no ser humano e causador de mastite bovina. Somente no início da década de 30, após Rebecca Lancefield desenvolver o método de tipagem dos estreptococos hemolíticos, é que este agente passou a ser identificado em amostras de puérperas assintomáticas, diferenciando-o do estreptococo do grupo A, que era o principal causador de infecções puerperais (SCHUCHAT, 2001).

O reservatório primário do Estreptococo do Grupo B (EGB) é o trato gastrintestinal, 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, adultos jovens e idosos, tanto do sexo masculino como do feminino (MANNING et al., 2004). Pode causar doença invasiva, que ocorre com maior freqüência entre zero e noventa dias de vida, voltando a ser mais prevalente entre idosos (ZANGWILL et al.,1992).

Em gestantes e puérperas a morbidade atribuída ao EGB inclui infecções do trato urinário e infecções puerperais tais como sepse, endometrite e abscessos de ferida cirúrgica (KROHN et al.,1999).

Alguns relatos apontam a possibilidade do EGB associar-se à ocorrência de trabalho de parto prematuro (FEIKIN et al., 2001) e ao óbito fetal (BLACKWELL et al., 2003). Em um estudo envolvendo 13.646 gestantes observou-se que mulheres com colonização maciça entre 23 e 26 semanas apresentaram maior risco de parto prematuro quando comparadas a mulheres não colonizadas (REGAN et al.,1996). Em um estudo com 2.846 gestantes não houve associação entre colonização cervicovaginal na 24ª. semana e parto prematuro, porém mulheres que tiveram partos prematuros apresentaram taxas de colonização significativamente maiores que mulheres com partos a termo, após ajuste para outros fatores de risco (FEIKIN et al., 2001). Esta relação não foi confirmada em outros estudos e a evidência ainda é inconsistente (CITERNESI et al., 1996; BAKER, 1997).

A importância maior do EGB em Perinatologia passou a ser reconhecida na década de 70, quando relatórios norte-americanos apontaram-no como o principal agente causador de sepse neonatal, sendo responsável, nas décadas de 80 e 90, por cerca de 7.500 casos ao ano (CDC, 1996). Em um estudo multicêntrico envolvendo 52.406 nascimentos, realizado nos Estados Unidos, o EGB foi o agente mais prevalente nos casos de sepse neonatal precoce, seguido pela *Escherichia coli* (SCHUCHAT et al., 2000). Os dados sobre as infecções neonatais são baseados em culturas e se as estatísticas incluírem os casos suspeitos ou considerados de alta probabilidade, sem comprovação

microbiológica, a real incidência pode ser cerca de três vezes maior, atingindo até 2,6 por mil nascidos vivos (BEDFORD RUSSELL et al.,2001).

O EGB pode causar dois quadros clínicos principais em recém-nascidos (RN): a doença neonatal precoce e a doença neonatal tardia. O quadro precoce ocorre durante a primeira semana de vida e é o mais prevalente, respondendo por 80% dos casos, enquanto que a doença tardia (após a primeira semana de vida) corresponde ao restante dos casos de infecção por EGB em recém-nascidos (SCHUCHAT, 1998). Cerca de 80% dos casos de doença neonatal precoce ocorrem nas primeiras 24 horas de vida (BAKER, 1997; SCHUCHAT, 1998). De 25% a 36% dos casos ocorrem em recém-nascidos prematuros (ZANGWILL et al.,1992; ODDIE e EMBLETON, 2002) com taxa de caso-fatalidade (número de óbitos atribuíveis à doença no grupo de RN acometidos pela mesma) maior que em recém-nascidos de termo (CDC, 1997; SCHUCHAT et al., 2001). A taxa de caso-fatalidade para recém-nascidos com menos de 33 semanas de gestação é de 30%, três vezes maior que a observada entre 34 e 36 semanas e quinze vezes maior que a de recém-nascidos com 37 semanas ou mais (SCHRAG et al., 2000). A maior susceptibilidade do prematuro pode estar relacionada a menor passagem transplacentária de anticorpos protetores, uma vez que dois terços da imunoglobulina G materna são transmitidos ao feto após a 30ª. semana de gestação. Além disso, o recém-nascido prematuro é portador de deficiências imunológicas nas vias alternada e clássica de complemento e na capacidade de fagocitose (DORAN e NIZET, 2004).

As conseqüências da infecção em RN envolvem desde sepse, pneumonia e meningite até seqüelas neurológicas, visuais e auditivas graves e debilitantes em 15%

a 30% dos recém-nascidos infectados, podendo levar ao óbito neonatal (BEARDSALL et al., 2000). Na maioria dos casos, os sintomas são evidentes seis a oito horas após o nascimento. Esta precocidade sintomática sugere que a ascensão através das membranas amnióticas, íntegras ou rotas, seja o evento básico que leve ao contato do EGB com tecidos fetais, uma vez que há relatos de isolamento desta bactéria no compartimento amniótico de mulheres com ruptura de membranas, óbitos fetais e abortos (SPELLERBERG, 2000; BLACKWELL et al., 2003). A contaminação através do canal de parto, outra forma descrita de transmissão do agente para o RN, pode ocorrer pela aspiração de secreções vaginais (DORAN e NIZET, 2004).

Um evento já descrito é a presença de sofrimento fetal intraparto ou anteparto como manifestação intra-uterina de sépse (KEOGH et al., 1999; BRIGANTI et al., 2002). Outra situação relacionada a este tipo de manifestação é o óbito fetal sem causa aparente e, em alguns estudos, o EGB foi um agente freqüentemente isolado em culturas de líquido amniótico e placenta (TOLOCKIENE et al., 2001).

Há poucos relatos brasileiros sobre a incidência de doença neonatal precoce. Em um estudo realizado em Porto Alegre, a prevalência de sepse precoce foi de um caso por mil nascidos vivos (MIURA e MARTIN, 2001). Em São Paulo, na Maternidade Santa Joana, a incidência relatada foi de 0,39 por mil nascidos vivos (VACILOTTO et al., 2002). Dados da busca ativa da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do Centro de Atenção Integral à Saúde a Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) mostram que no período em que este estudo foi realizado a incidência de sepse precoce pelo EGB foi de 1,47 por mil nascidos vivos.

A patogênese da infecção neonatal pode ser dividida em quatro aspectos básicos: *colonização* por aderência a mucosas maternas, *invasão* por quebra das barreiras celulares do hospedeiro, *evasão* do sistema imunológico do hospedeiro e *ativação* de processo inflamatório (DORAN e NIZET, 2004).

A *colonização* do trato genital depende da adesão de proteínas de superfície do EGB à fibronectina, laminina e ao fibrinogênio da mucosa vaginal (SCWARTZ-LINEK et al., 2003). A persistência da colonização está relacionada à co-ligação de uma proteína de clivagem da fração C5a do complemento com a fibronectina não solúvel, o que impede a opsonização e a remoção do EGB do epitélio vaginal (DORAN e NIZET, 2004).

A *invasão* dos tecidos fetais ocorre através da ligação principalmente com células coriônicas. O desencadeamento da produção local de prostaglandinas e radicais livres fragiliza a membrana amniótica e predispõe tanto à sua ruptura quanto à ocorrência do trabalho de parto (BENETT et al., 1987). O EGB também pode invadir a cavidade amniótica íntegra a partir da ascensão por contato direto com as membranas e, através do líquido amniótico, atingir o pulmão, que passa a ser o órgão central na patogênese da disseminação da infecção (BURNHAM e TYRRELL, 2002). Ocorre captação pelas células alveolares e endoteliais pulmonares e dentro destas o EGB produz uma beta-hemolisina que lesa diretamente a membrana celular, formando poros e permitindo a invasão da corrente sanguínea, além de promover a apoptose e a destruição de linfócitos e macrófagos (TYRRELL et al., 2002). Esta beta-hemolisina também estimula a produção de interleucina-8, uma potente citocina pró-inflamatória, aumentando a lesão pulmonar (DORAN e

NIZET, 2004). Esta ação citolítica e pró-inflamatória do EGB pode ser inibida pelo principal componente do surfactante pulmonar, a dipalmitoil fosfatidilcolina, o que pode explicar, em parte, a maior susceptibilidade do prematuro à doença invasiva, já que este possui esta substância em menor quantidade (DORAN et al., 2002). Outros fatores de invasão celular são a produção de hialuronidase, que degrada o tecido conjuntivo, e o chamado fator CAMP, uma proteína extracelular que forma poros e provoca lise de membranas celulares do hospedeiro (SPELLERBERG, 2000).

Outro aspecto importante e que confere grande virulência é a *evasão* imunológica, ou seja, a presença de mecanismos que dificultam o reconhecimento do EGB pelo hospedeiro. O EGB pode ser imunologicamente classificado em nove sorotipos diferentes, classificação esta baseada na conformação molecular do polissacarídeo capsular. Este polissacarídeo é composto de uma seqüência de carboidratos conjugados a um terminal de ácido siálico (BURNHAM e TYRRELL, 2003). Os sorotipos são classificados em Ia, Ib, Ic e II a VII. Esta conformação da cápsula também está presente na superfície de várias membranas celulares de mamíferos, proporcionando uma "camuflagem" extremamente eficiente, impedindo o reconhecimento e a fagocitose do EGB pelas células do hospedeiro. Cepas de EGB não-capsuladas, raramente causadoras de doença em humanos, são mais facilmente removidas pelo sistema imunológico (DORAN e NIZET, 2004). A capacidade de sobreviver por longos períodos dentro de lisossomas de macrófagos, a produção da enzima superóxido-dismutase e de um pigmento carotenóide, que protegem contra o estresse oxidativo, e a inibição da atividade do sistema complemento, reduzem ainda mais a capacidade de reconhecimento

e ativação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, especialmente o recém-nascido prematuro (SPELLERBERG, 2000).

A *ativação* de processos inflamatórios através de outras proteínas de superfície do EGB é responsável pela sepse e pela disfunção de múltiplos órgãos, mediadas principalmente pelo fator de necrose tumoral alfa e pela interleucina-1, além de outras citocinas produzidas pelo hospedeiro. A beta-hemolisina está associada à produção de óxido nítrico e hipotensão arterial. O processo inflamatório é mais intenso no cérebro e nas meninges, estimulado pelo endotélio da barreira hemato-encefálica (DORAN et al., 2002).

Devido ao seu potencial de causar infecções graves nos recém-nascidos, é importante saber o que pode estar associado à colonização materna. Os fatores de risco sociodemográficos para colonização pelo EGB foram objeto de vários estudos. O maior deles, que envolveu 7.742 mulheres, do grupo intitulado *Vaginal Infections and Prematurity Study Group*, demonstrou que nenhuma das variáveis estudadas permitia selecionar um grupo específico de mulheres com alta probabilidade de estarem colonizadas e que o rastreamento seletivo não seria útil (REGAN et al., 1991).

A partir de uma mãe colonizada, o recém-nascido tem 50% de chance de nascer colonizado. Destes 50% colonizados, 2% apresentarão doença invasiva, ou seja, sepse precoce, pneumonia e/ou meningite (BAKER e EDWARDS, 1995). Recém-nascidos de mães colonizadas têm um risco 29 vezes maior de desenvolver sepse precoce quando comparados a recém-nascidos de mães com culturas pré-natais negativas (BOYER e GOTOFF, 1986). Fatores microbiológicos e

imunológicos, como o sorotipo de EGB, grandes inóculos bacterianos e baixos níveis de anticorpos contra o polissacarídeo capsular da cepa colonizadora, são importantes fatores de risco (LIN et al., 2004).

Dos fatores de risco para a infecção neonatal já identificados, a colonização materna no momento do parto é o mais importante, com um risco relativo de 204 (BENITZ, 2002). Em uma avaliação de quatro estudos ocorreu apenas um caso de sepse precoce entre 10.301 gestantes com culturas vaginais negativas e 49 casos entre 2.443 gestantes colonizadas (BENITZ et al., 1999).

Outros fatores de risco são a prematuridade, a duração prolongada de ruptura prematura de membranas, a presença de febre durante o trabalho de parto e a bacteriúria por EGB durante a gestação (BENITZ et al., 1999; MOHAMMAD et al., 2002; ODDIE e EMBLETON, 2002; SCHRAG et al., 2002).

Vários estudos avaliaram os fatores de risco clínicos como métodos de rastreamento de gestantes de risco para infecção neonatal pelo EGB, mas não demonstraram resultados superiores à avaliação da colonização materna. Em um estudo de caso-controle com 188 casos de sepse neonatal precoce, em apenas 49% destes havia fatores de risco obstétricos. Em outros estudos este percentual variou de 34% a 54% (TOWERS et al., 1999; SCHUCHAT et al., 2000; VOLUMENIE et al., 2001; GRIMWOOD et al., 2002). Entre casos de sepse causados por outros agentes, 79% tinham pelo menos um destes fatores de risco presentes (SCHUCHAT et al., 2000).

Portanto, a colonização materna no momento do parto é o fator de risco mais importante e o isolamento do EGB é ponto fundamental nesta discussão.

É importante que a coleta de material seja feita tanto do ânus quanto da vagina. A taxa de isolamento de EGB é cerca de 20% a 40% maior quando se associa a cultura vaginal com a cultura anal (PHILIPSON et al., 1995; MADANI et al., 1998; QUINLAN et al., 2000; JAUREGUY et al., 2003). Uma porcentagem significativa de mulheres apresenta apenas um dos locais colonizados e esta percentagem é de 18% a 24% maior nas amostras anorretais em relação às vaginais (MADANI et al., 1998; QUINLAN et al., 2000). Em uma análise de 651 amostras, a associação das culturas reduziu significativamente o número de resultados falso-negativos, permitindo detectar 97,8% das portadoras (PLATT et al, 1995).

A característica de intermitência ou transitoriedade da colonização dificulta a determinação do momento em que uma cultura deve ser feita durante a gravidez (SCHRAG, 2004). Quanto mais próxima ao parto for realizada a cultura, maior a especificidade, sensibilidade e valores preditivos positivo e negativo (JACOMINA et al.,1982). Se colhida com mais de seis semanas antes do parto, a sensibilidade e a especificidade da cultura são de 43% e 85%, respectivamente, subindo para 89% e 97%, se realizada de um a cinco dias antes. O valor preditivo positivo, que é próximo a 100% na cultura realizada até uma semana antes do parto, é menor que 50% se realizada seis semanas antes (YANCEY et al., 1996).

O tipo de meio de cultura utilizado aumenta o índice de detecção e diminui o número de resultados falso-negativos, sendo adequado o uso de meios seletivos enriquecidos, como o de Todd-Hewitt, suplementado com gentamicina e ácido nalidíxico, que possui sensibilidade significativamente maior quando comparado a outros meios, como o ágar-sangue e Granada, com valores de 98,7% (SCHRAG

et al., 2002; GUPTA e BRISKI, 2004). O uso da cultura com semeadura direta em placas de ágar-sangue, ao invés da incubação em meio seletivo, pode levar a 50% de resultados falso-negativos (CDC, 1999). O tempo médio recomendado para leitura das placas semeadas e identificação do EGB é de 24 horas, sendo que o tempo de incubação no meio seletivo é de 18 a 24 horas (SCHRAG et al., 2002). Portanto, resultados confiáveis de culturas podem levar de 24 a 48 horas. Em uma revisão de vários estudos de prevalência realizados em países em desenvolvimento compreendendo 7.730 mulheres, em apenas 3.801 foram utilizados meios de cultura seletivos e a prevalência encontrada foi semelhante à de países desenvolvidos (STOLL e SCHRAG, 1998).

Testes rápidos imunológicos que detectam o antígeno do grupo B de Lancefield estão disponíveis, mas não são adequados, por sua baixa sensibilidade (BAKER, 1996). Métodos baseados em sondas de hibridização que detectam RNA do EGB apresentam elevadas sensibilidade e especificidade, porém somente após 18 a 24 horas de incubação em meio seletivo (KIRCHER et al., 1996). Testes que utilizam o DNA bacteriano para detectar o EGB têm baixa sensibilidade quando comparados à cultura seletiva (ROSA et al., 1995). Recentemente, testes rápidos baseados em reação em cadeia de polimerase (PCR) foram avaliados em relação à cultura em meio seletivo e apresentaram bom desempenho (DAVIES et al., 2004; PICARD e BERGERON, 2004).

A importância da detecção de gestantes colonizadas pelo EGB decorre da possibilidade de fazer a profilaxia da transmissão vertical deste agente, reduzindo o risco de doença neonatal e suas seqüelas.

Há quase duas décadas foi realizado um ensaio clínico randomizado sobre o uso de antibióticos durante o trabalho de parto como medida profilática de infecção neonatal por EGB (BOYER e GOTOFF, 1986). Nesse estudo, gestantes com culturas positivas realizadas entre 26 e 28 semanas e que apresentaram algum fator de risco no momento do parto, receberam ampicilina intraparto. Os resultados foram significativamente melhores nesse grupo e a randomização foi interrompida antes do término do ensaio. Desde então, vários estudos têm utilizado diferentes abordagens e critérios de seleção para o uso de antibióticos profiláticos (MORALES et al., 1986; MORALES eLIM, 1987; TUPPURAINEM e HALLMAN, 1989; ALLEN, NAVAS e& KING, 1993; OHLSSON e MYHR, 1994). A redução da incidência de infecção neonatal pelo EGB varia de 40% a 95% (BROZANSKY et al., 2000; SCHUCHAT et al., 2001; VOLUMENIE et al., 2001). Uma revisão sistemática mostrou que a administração de antibióticos durante o trabalho de parto reduziu os riscos de colonização e de sepse neonatal precoce, porém não reduziu a mortalidade (SMAILL, 2000).

Em 1996, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos Estados Unidos publicou diretrizes clínicas e laboratoriais para prevenção da doença perinatal causada pelo EGB (SCHRAG et al., 2002).

As recomendações inicias do CDC sugeriam duas abordagens: a detecção de fatores de risco clínicos e o rastreamento de colonização materna através de culturas vaginais e anorretais entre 35 e 37 semanas de gestação.

A abordagem por rastreamento com prescrição de antibióticos apenas para as mulheres colonizadas é a que preveniria o maior número de casos precoces,

permitindo antecipar o início da profilaxia no trabalho de parto, aumentando a eficácia. Tem como vantagens uma sistematização mais eficaz e um menor índice de falso- negativos (DE CUETO et al., 1998).

A abordagem por fatores de risco tem um custo menor, porém previne um número menor de casos de doença precoce (ROUSE et al., 1994). Além disso, em uma série de 5.410 partos, 19,8% das gestantes tinham fatores de risco presentes no momento do parto (TOWERS et al., 1999), o que pode levar à prescrição de antibióticos para uma em cada cinco gestantes, injustificável em locais onde a prevalência de colonização materna seja baixa. Ainda nesta abordagem, pacientes com trabalho de parto prematuro, ruptura de membranas por mais de 18 horas, febre durante o trabalho de parto, bacteriúria nesta gestação por EGB ou antecedente de recém-nascido com doença por EGB, deveriam receber antibióticos profiláticos. A vantagem desta abordagem é a sua fácil aplicabilidade, com um custo menor, portanto acessível mesmo em locais de assistência pré-natal com poucos recursos. No entanto, estima-se que possa prevenir menos da metade dos casos de sepse neonatal precoce pelo seu baixo valor preditivo, como já destacado (HALLYDAY et al., 2000).

Na prática a abordagem por rastreamento é mais complexa, pois implica mudanças de rotina do pré-natal, adoção de metodologias laboratoriais adequadas e integração entre diferentes serviços de assistência obstétrica e neonatal. Os fatores de risco são de aplicabilidade mais fácil, mas têm baixa sensibilidade.

A abordagem por rastreamento foi superior à abordagem por fatores de risco na redução dos casos de sepse precoce por EGB em relatos de grandes séries (GILSON et al., 2000; MAIN e SLAGLE, 2000; SCHRAG et al., 2002a).

Diante destes dados, o CDC revisou as diretrizes publicadas em 1996 e reforçou a importância da realização das culturas durante o pré-natal. Além disso, estas novas diretrizes sugerem que em situações de risco de parto prematuro, a administração de antibióticos deve ser iniciada ao mesmo tempo em que são colhidas as culturas e o resultado destas deve direcionar a conduta (SCHRAG et al., 2002b). Estas recomendações, resumidas nas Figuras 1 e 2 (Anexo 7), são endossadas pelo Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas (ACOG, 2002).

O uso de antibióticos ainda é a única medida efetiva para reduzir a incidência da doença perinatal causada pelo EGB. Estima-se que em torno de 20% de todas as mulheres em trabalho de parto receberiam antibióticos segundo as diretrizes do CDC. Este percentual pode ser ainda maior em regiões onde a prevalência de colonização materna seja mais elevada ou em centros terciários onde a taxa de partos prematuros é maior (TOWERS e BRIGGS, 2002). O relato do aparecimento de cepas de *Escherichia coli* resistentes a ampicilina, com uma alta mortalidade em recém-nascidos de muito baixo peso, pode ser uma conseqüência do uso deste antibiótico em mulheres colonizadas (LEVINE et al., 1999; SCHUCHAT et al., 2000). Relatos mais recentes não confirmam as observações iniciais e, em grandes séries, não houve aumento da incidência de sepse por germes resistentes à ampicilina (ANDREU et al., 2001; BALTIMORE et al., 2001; CHEN et al., 2001). A exposição materna freqüente também aumenta o risco de anafilaxia, com

possibilidade de manifestações clínicas graves (DUNN et al., 1999). Pesquisas mais recentes procuram alternativas à antibioticoprofilaxia, em particular o desenvolvimento de vacinas administradas às mães antes ou durante a gestação (BAKER et al., 1999).

Há poucos estudos nacionais sobre a prevalência de colonização materna e as taxas descritas variam de 6% a 25,6% (SKLOVSKY et al, 1982; BENCHETRIT et al., 1982; SMANIA Jr et al., 1986; MOCELIN et al., 1995). Em um estudo mais recente, realizado em Londrina, onde foram avaliadas 309 gestantes com 36 semanas ou mais, a taxa de colonização encontrada foi de 14,9% (BERALDO et al., 2004). Apesar da escassez de dados publicados, o EGB parece ser um importante patógeno neonatal no Brasil. Em estudo realizado em Ribeirão Preto, em 261 recém-nascidos que apresentaram insuficiência respiratória antes de cinco dias de vida, o *Streptococcus agalactiae* foi o agente infeccioso mais freqüentemente isolado (MUSSI-PINHATA et al., 2004).

Uma vez que as infecções por EGB, especialmente a sepse precoce, constituem um problema de saúde pública ainda por ser adequadamente avaliado e estudado na maioria das maternidades, foi realizado um estudo de prevalência de colonização materna em situações de alto risco de parto prematuro. Esta avaliação nunca foi feita em estudos brasileiros e é um primeiro passo para a adoção racional de rotinas assistenciais na prevenção da doença perinatal por EGB.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a prevalência e fatores de risco para colonização materna e neonatal por EGB em situações de trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas, e comparar as taxas de detecção entre diferentes locais de coleta de material e meios de cultura laboratorial.

2.2. Objetivos específicos

- **Artigo 1**

  - Identificar a taxa de colonização anorretal e/ou vaginal materna pelo EGB.
  - Identificar fatores de risco para colonização anorretal e/ou vaginal materna por EGB.
  - Identificar a taxa de colonização neonatal por EGB.
  - Identificar a prevalência de sepse neonatal precoce por EGB.

- **Artigo 2**

  - Comparar a taxa de detecção de EGB entre culturas anorretais e vaginais.

  - Comparar a taxa de detecção de EGB entre culturas em meio seletivo e em meio não seletivo.

3. Publicações

carlos

De: "The Green Journal" <em@greenjournal.org>
Para: <mlnomura@unicamp.br>
Enviada em: quinta-feira, 18 de novembro de 2004 19:43
Assunto: Submission Confirmation

Dear Dr. Nomura:

RE: 04-1322

Thank you for submitting your manuscript for consideration for publication in Obstetrics & Gynecology. The manuscript has been assigned the number given above. Please refer to this number in any correspondence.

Your paper has been sent to the Editorial Board and to expert reviewers. As soon as these reviews are completed, we will contact you.

Please log on to Editorial Manager at http://ONG.editorialmanager.com as an AUTHOR for details on your Manuscript titled "Group B Streptococcus colonization in preterm labor and preterm premature rupture of membranes." If you have not already done so, please submit an author agreement form (available in each issue of the journal and online at http://www.greenjournal.org) to the editorial office. Currently, the journal can accept original, electronic, or fax copy signatures.

Best regards,

The Editors of Obstetrics & Gynecology

3.1. Artigo 1

Prematurity and GBS maternal colonization

Title page:

Group B streptococcus colonization in preterm labor and preterm premature rupture of membranes

Authors:

Marcelo Luís Nomura, M.D.*

Renato Passini Júnior, M.D., Ph.D.*

Ulysses Moraes Oliveira, M.D., Ph.D.**

* Department of Obstetrics and Gynecology, Medical School, University of Campinas, São Paulo State, Brazil.

** Department of Clinical Pathology, Medical School, University of Campinas, São Paulo State, Brazil.

Corresponding author: Marcelo Luís Nomura

Address: Rua Alexander Fleming, 101

Cidade Universitária Zeferino Vaz –

Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher -Universidade Estadual de Campinas- Campinas - São Paulo State – Brazil - CEP 13084-881

Email: mlnomura@unicamp.br

PRÉCIS

Group B Streptococcus maternal colonization rates are high in women with preterm labor and preterm rupture of membranes, urinary tract infection is a risk factor.

Abstract

Objective: to identify maternal and neonatal group B streptococcus (GBS) colonization rates and risk factors for colonization in women with preterm labor and preterm premature rupture of membranes (PROM). **Methods**: a prospective cohort study of 203 women was performed. Two vaginal and two anorrectal samples from each woman were collected using sterile swabs. Two swabs (one anorrectal and one vaginal) were placed separately in Stuart transport media, and cultured in blood-agar-plates for 48 hours; the other two swabs were inoculated separately in Todd-Hewitt selective media for 24 hours and then subcultured in blood-agar plates. Final GBS identification was made by the CAMP test. Oropharingeal swabs were collected from 98 newborns. **Results**: Maternal colonization rate was 27.6%. Colonization rates were 30% for preterm PROM and 25.2% for preterm labor. White race, less than elementary school level and urinary tract infection were associated with maternal colonization in the univariate analysis and urinary tract infection was the only variable significantly associated in the multivariate analysis. Neonatal colonization rate was 3.1% and vertical transmission rate was 3.1% (one newborn among 31 colonized women). Two cases of GBS early-onset neonatal sepsis occurred, with a prevalence of 10.8 cases per thousand liveborns and a mortality rate of 50%. **Conclusions**: Women in this study had high rates of maternal GBS colonization. Urinary tract infection is significantly associated with maternal colonization. Neonatal vertical transmission rate was lower than previously reported in literature.

Introduction

Group B Streptococcus (GBS) or *Streptococcus agalactiae* is a known agent of perinatal infections since the 1970´s decade. In a multicenter surveillance performed in the United States, with an aggregate of 52406 births, GBS was the most common agent of early-onset neonatal sepsis, followed by *Escherichia coli*[1].

Several risk factors for neonatal infection have been identified, and maternal colonization at delivery is the most important, raising this risk almost 200 times[2]. Nearly 25% of early-onset sepsis caused by GBS occur among newborns with less than 37 weeks. However, the case-fatality ratio is higher in preterm babies than in term ones and mortality rates are eight times higher[3]. Prematurity is considered an independent risk factor for GBS early-onset sepsis, and the risk ratio doubles for each 3 weeks reduction in gestational age, and approaches 20 for newborns less than 28 weeks[4]. The estimated relative risk of neonatal disease in preterm pregnancies ranges from 1.50 to 4.83 and is inversely proportional to gestational age.[5, 6]

In the view of these data, a prospective study was conducted to identify possible risk factors and to determine maternal and neonatal colonization rates in women with preterm labor and/or preterm premature rupture of membranes (PROM).

Material and Methods

During the period between February 2003 and January 2004, 203 pregnant women were enrolled and included in the study at the Maternity of the Campinas State University, located in Campinas, São Paulo State, Brazil. Two vaginal and two anorrectal sterile swabs were obtained from each woman,

according to the Centers for Disease Control and Prevention recommendations[7]. Two swabs (one vaginal and one anorrectal) were separately placed in two tubes containing Stuart transport media, and then cultured in blood-agar plates for 48 hours. The other two swabs were inoculated separately into Todd-Hewitt selective broth medium, enriched with gentamicin and nalidixic acid, incubated for 24 hours and after this subcultured for 24 hours in blood-agar plates. The final identification of GBS was made by the CAMP test. A woman was considered colonized if any of the cultures was positive for GBS. Oropharingeal swabs were collected from 98 newborns.

Data analysis was made by 2X2 tables and Chi-square or Student's t tests were performed when indicated, with a p value of 0.05. In the multivariate analysis, adjusted Risk Ratios for each variable were calculated according to the others, through Breslow-Cox regression model. Statistical analysis was made with SAS/STAT software, version 8.2.

The institutional Board of Ethics approved the study and all women enrolled signed an informed consent.

Results

A total of 203 women were screened, and 812 cultures were performed. The mean maternal age was 27.4 ± 6,6 years and the mean gestational age at enrollment was 31,6 ± 3,3 weeks. White race women constituted 51.7% of the studied population, black race women 12.3% and mulatto women 36%. One hundred and three (50.7%) women presented in preterm labor, 72 in preterm PROM

(355%) and both occurred in 28 (13.8%). Thus the proportion of women with intact and ruptured membranes at admission was 50.7% and 49.3%, respectively. Bacteriuria (urinary tract infections or positive urine cultures) were detected in 12 women, among 190 cultures collected (6.3%); *Escherichia coli* was detected in 10 cases, *Staphylococcus saprophyticus* in one and *Streptococcus agalactiae* in another one. Of these 12 women with bacteriuria, eight (75%) were colonized by GBS.

Among 812 cultures processed, 132 (16.2%) were positive and 56 women had at least one of the cultures positive, which yields a maternal colonization rate of 27.6%. Women with ruptured membranes had a colonization rate of 30%, and women with preterm labor 25.2%.

Table 1 shows the number of colonized and non-colonized mothers and the prevalence of colonization rates by admission diagnosis and gestational age.

Univariate analysis of some demographic, clinical and obstetrical variables and maternal colonization is shown in Table 2. White race, low level of education (less than elementary school) and bacteriuria at the time of admission were satistcally associated with maternal colonization.

In the multivariate analysis, however, only urinary tract infection remained as the only variable associated with GBS colonization, as presented in table 3.

One hundred and seventy-nine women delivered at our institution, with 185 live newborns. The mean gestational age at birth was 35 weeks, ranging from 22 to 41 weeks. Mean birth weight was 2.290g, ranging from 384 to

4.195g, 55.9% of the babies weighed less than 2.500g. Cesarean section was performed in 36.9% of the deliveries.

Ninety-eight newborns had oropharingeal swabs collected and three of them were colonized by GBS. Neonatal colonization rate was 3.1% (3 of 98) and vertical transmission rate was 3.1% (1 newborn of 32 colonized mothers).

Of these three colonized babies, one was born at 37 weeks, weighed 2.645g, and remained assymptomatic; his mother had negative anorrectal and vaginal cultures at 32 weeks, when she presented in preterm labor. The other two colonized babies developed early-onset neonatal sepsis caused by *Streptococcus agalactiae.* There were 2 cases among 185 liveborns, which results in a prevalence rate of 10.8 cases per thousand liveborns.

One of the mothers who gave birth to an infected infant was admitted at 32 weeks gestation, in advanced labor with a history of ruptured membranes 4 hours before admission. Ninety minutes after admission she gave birth to a 1915 grams newborn, who developed septic shock and died 48 hours later. The mother had all of the four collected cultures positive for GBS.

The other mother was admitted at 22 weeks with preterm labor and had all cultures negative. She delivered six weeks later, received intrapartum penicilin, and gave birth to a 985g liveborn, who developed GBS-related pneumonia and sepsis, but had a good course and was discharged in the 65th day of life in good clinical conditions. Antibiotic prophylaxis was prescribed less than one hour

before birth, and maternal cultures were performed more than five weeks before delivery. Thus the colonization status of this mother at delivery was unknown.

Discussion

Several risk factors were studied. White race women had greater colonization rates than non-white ones (relative risk 1.65; 95% confidence interval 1.68 – 2.09) and this finding is discordant with previous reports in literature. This is possibly due to a demographic characteristic of the Brazilian people, which is the strong ethnic mixture. The socioeconomic and racial condition of the women attended at our institution is not very different from the rest of the country, diluting the effect of this variable. For this reason too, there is some subjectivity in the interpretation of the skin color concept. The ethnic variations in colonization rates may reflect proper characteristics of each geographic location.

Low education level was also a significant risk factor in the univariate analysis. Fifty-six percent of the total and 68% of the colonized mothers had education level below elementary school. White race and low education level were not associated with colonization in the multivariate analysis, however the lower limits of the confidence intervals (0.96 and 0.98, respectively) could indicate a tendency in this population. Nevertheless, GBS serotype and heavy maternal colonization are more important than socio-demographic factors as determinants of the geographic differences in the incidence of neonatal disease.

Urinary tract infection at the time of admission was the only variable associated with maternal colonization in the univariate as in the multivariate analysis (relative risk 2.83 and adjusted relative risk 2.60). There was only one case of GBS bacteriuria, which is considered a risk factor for neonatal sepsis and a criterion of indication for intrapartum antibiotic prophylaxis. The predictive value of a positive urine culture for GBS in the first trimester for ano-vaginal colonization at delivery seems to be low[8]. In this study, however, urine cultures were collected at hospital admission. Mothers of newborns who develop early-onset sepsis have significant lower levels of anti-capsular polysaccharide antibodies[9]. This blunted immune response to GBS and maybe also to other pathogenic microorganisms may predispose these women to genito-urinary infections.

It is possible then that the relationship between bacteriuria and prematurity might be related not only to the inflammatory process triggered by urinary infection, but also to a facilitation of cervical and vaginal colonization by other agents in immune susceptible women[10]. This fact could explain, partially, the high incidence of intrauterine infection (40%) in preterm deliveries, which is inversely proportional to gestational age[11]. However, in a study of 1429 pregnant women and 512 urine cultures, the incidence of assymptomatic bacteriuria was only 1.2% and was not related to preterm delivery[12]. This lack of association was also described for GBS bacteriuria, which is uncommon in the general population of pregnant women[13]. In this study, descriptive as well statistic analysis showed a strong correlation between bacteriuria and maternal colonization. Moreover, the incidence of preterm delivery in seven women with bacteriuria and GBS colonization

was 100%. Despite the small sample, this evident association certainly deserves more detailed studies.

In a study performed in Denmark, women who delivered prematurely had significantly higher GBS colonization rates than those who delivered at term, after adjustment for other risk factors[14]. However, there is not enough evidence linking maternal colonization and preterm delivery[10,15]. The controversy surrounding this issue remains on the heterogeneity of the studies, which include different populations and different methods of microbiologic screening (culture media and site of sampling).

The prevalence of maternal colonization in women with preterm PROM was high in this study. This situation poses a managing dilemma, and there is no consensus in literature regarding the best way to manage these cases. Conservative management allows a reduction in prematurity risks and offers the benefit of corticosteroids for lung maturation, but at the same time exposes the fetus to an important risk factor for neonatal sepsis, which is prolonged PROM. In the same way as for preterm labor, there is no solid evidence for an association between GBS and PROM[14, 16.In] theory, it is possible that the adesion to the membranes, followed by the production of free radicals and prostaglandins, weakens amniotic membrane and promotes its rupture[17]. Microbiologic and pathology studies of the placenta and fetal membranes, searching for specific virulence factors, are needed to clarify a probable role of GBS in the etiology of PROM.

Colonization rates reported in literature in women with preterm labor and/or preterm PROM are 11% and 20%, respectively[18]. The rates found in this study were higher than these, and although there are no evidences, the situation of a threatened preterm delivery might be actually a risk factor for maternal colonization, as shown in previous reports[14].

The importance of a prevalence study of maternal colonization in pregnant women at risk for preterm delivery is based on the high mortality of GBS disease in these newborns, which is eight times higher than in full term pregnancies[5]. The incidence of early-onset sepsis in this sample was 10,8 per thousand liveborns. Data of our institution showed that during the period that the study was performed, the total early-onset sepsis rate was 1.47 per thousand liveborns. Comparing these numbers, prematurity emerges as an important risk factor in our population. Although the incidence of preterm delivery has been high, mean birth weigh did not differ significantly between colonized and non-colonized women. Larger samples are needed to confirm these findings.

The highest case-fatality ratio in preterm newborns might be related to some of the GBS virulence factors, such as sialic acid, conjugated to the capsular polysaccharide, the production of an enzyme capable of cleavage C5a complement fraction, and the inhibition of phagocytosis, all of these associated to the compromised immune system of the premature baby[17]. GBS also cannot synthesize many of the essential aminoacids, vitamins and co-factors, and 10% of its genome is destined to code carrier proteins and enzymes that digest macromolecules[18].

This host dependence is superseded by the mechanisms of obtention of these nutrients, which are related to the great capacity of cell lysis[17,18].

Neonatal colonization rate (number of colonized live newborns of the women enrolled) was low when compared to other reports, as well as the vertical transmission rate, which ranges from 29% to 85%[19]. The three colonized babies were born from mothers in whom the interval between the beginning of antibiotic prophylaxis and delivery was less than two hours, or in whom no antibiotics were prescribed during labor. A limitation of the analysis of this aspect is the small sample of newborns in our study.

The rates of maternal GBS colonization found in this study could be considered high, particularly because the clinical scenarios put these women at great risk for preterm delivery and neonatal disease. The findings of this study showed that is important to collect GBS cultures in these situations, however the time needed to get the results of these cultures limit their applicability. The impending risk of preterm delivery in women with unknown colonization status shows the limitations of the current recommended protocols and preventive measures.

The search for suitable rapid tests in terms of microbiologic precision and cost-benefit ratio that could be performed at time of delivery is ongoing. Other alternatives, such as vaccines that stimulate maternal production of antibodies against the capsular polysaccharide that passively immunize the fetus are the focus of most recent research. Studies have gone through clinical phase I and showed that immunized pregnant women between 32 and 34 weeks with type III

polysaccharide vaccines conjugated with tetanus toxoid produced satisfactory levels of antibodies. Children born to these women also had adequate antibodies serum levels, when tested *in vitro*[20]. Recently, molecular biology researches indicate that DNA based vaccines can be successfully administered intra utero to fetal lambs in third trimester[21].

References

1. Schuchat A, Zywicki SS, Dinsmoor MJ, Mercer B, Romaguera J, O'Sullivan MJ et al. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. Pediatrics. 2000;105(1 Pt 1):21-6.
2. Benitz WE, Gould JB, Druzin ML. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. Pediatrics. 1999;103(6): e77.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Decreasing incidence of perinatal group B streptococcal disease – United States, 1993-1995. MMWR 1997;46:473-77.
4. Benitz WE. Perinatal treatment to prevent early onset group B streptococcal sepsis. Semin Neonatol. 2002;7(4):301-14.
5. Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS, et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. N Engl J Med. 2002;347(4):233-9.
6. Adair CE, Kowalsky L, Quon H, Ma D, Stoffman J, McGeer A et al. Risk factors for early-onset group B streptococcal disease in neonates: a population-based case-control study. CMAJ. 2003;169(3):198-203.

7. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Buts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. MMWR 2002:51(RR-11):1-22.
8. MacKenna DS, Matson S,Northern I. Group B streptococcal colonization at term in women who have asymptomatic GBS bacteriuria. Infec Dis Obstet Gynecol 2003;11(4):203-7.
9. Herbert MA, Beveridge CJE, Saunders NJ. Bacterial virulence factors in neonatal sepsis: group B streptococcus. Curr Op Inf Dis 2004;17:225-9.
10. Romero R, Espinoza J, Chaiworaponga T & Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. Semin Neonatol 2002;7:259-74.
11. Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and outcome among women in preterm labor. Obstet Gynecol 1992;79:351-7.
12. Hundley AF, Onderdonk AB, Greenberg JA. Value of routine urine culture in the assessment of preterm labor. J Reprod Med. 2003;48(11):853-7.
13. McKenzie H, Donnet ML, Howie PW, Patel NB, Benvie DT. Risk of preterm delivery in pregnant women with group B streptococcal urinary infections or urinary antibodies to group B streptococcal and E. coli antigens. Br J Obstet Gynaecol. 1994;101(2):107-13.
14. Feikin DR, Thorsen P, Zywicki S, Arpi M, Westergaard JG, Schuchat A. Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women. Am J Obstet Gynecol. 2001 Feb;184(3):427-33.

15. Baker CJ. Group B streptococcal infections. Clin Perinatol. 1997;24(1):59-70.
16. Garland SM, Kelly N, Ugoni AM. Is antenatal group B streptococcal carriage a predictor of adverse obstetric outcome? Infect Dis Obstet Gynecol. 2000;8(3-4):138-42.
17. Doran KS & Nizet V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. Mol Microbiol. 2004;54(1):23-31.
18. Nguyen T, Guinn DA, Rodriguez A, Mehendale R, Quillen EQ, Albrecht LM. Strategies to decrease costs associated with GBS prophylaxis in preterm gestations. Prim Care Update Ob Gyns. 1998;5(4):148-149.
19. Tsolia M, Psoma M, Gvrili S et al. Group B streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. Clin Microbiol Infect 2003;9:382-3.
20. Baker CJ & Edwards MS. Group B Streptococcal vaccines. Arch Dis Child 2003;88:375-8.
21. Gerdts V, Tsang C, Griebel PJ, Babiuk LA. DNA vaccination in utero: a new approach to induce protective immunity in the newborn. Vaccine. 2004;22(13-14):1717-27.

TABLE 1

Number of colonized women and colonization rate by diagnosis and gestational age

Gestational Age (weeks)	DIAGNÓSTICO						Total
	PPROM*			PTL†			
	Colonized	Non-colonized	CR‡ (%)	Colonized	Non-colonized	CR‡ (%)	
< 28	4	6	40	3	9	33.3	23
28-31	10	18	35.7	6	21	28.5	55
32-34	11	25	30.5	12	34	35.3	82
> 34	5	20	25	5	13	38.5	43
Total	30	70	30	26	77	**25.2**	**203**

* preterm rupture of membranes †preterm labor ‡colonization rate

TABLE 2

Univariate analysis of socio-demographic characteristics and maternal GBS colonization

Variable		Colonized	Non colonized	Total		
					RR*	
		n	n		(CI† 95%)	p
Age	< 19	12	26	38	1.7 (0.7 – 2.02)	0.541
	≥ 19	44	121	165		
Race	White	36	69	105	**1.65 (1.08 – 2.69)**	**0.027**
	Other	20	78	98		
Low level of education	Yes	37	73	110	**1.70 (1.03 – 2.81)**	**0.031**
	No	17	69	86		
Gestational Age	<32 weeks	23	55	78	0.90 (0.57 – 1.41)	0.632
	≥ 32 weeks	33	92	125		
Diagnosis	PPROM‡	30	70	100	1.38 (0.87 – 2.18)	0.178
	PTL§	26	77	103		
Urinary tract infection	Yes	42	136	178	**2.83 (1.75 – 4.56)**	**0.001**
	No	8	4	12		
Primigravid	Yes	23	52	75	0.84 (0.54 – 1.32)	0.452
	No	33	95	128		
Mean birthweight (g) ± SD‖		2147 ± 762	2361 ± 744		1.44 (0.88 – 2.36)	0.134

*Risk Ratio †Confidence Interval ‡Preterm PROM §Preterm labor ‖Standard deviation

TABLE 3

Multivariate analysis of socio-demographic characteristics and maternal GBS colonization

Variable		Colonized	Non colonized	Total		
					ARR*	
		n	n		(CI† 95%)	p
Age	< 19	12	26	38	0.84 (0.39- 1.80)	0.652
	≥ 19	44	121	165		
Race	White	36	69	105	1.66 (0.96–2.89)	0.071
	Other	20	78	98		
Low level of education	Yes	37	73	110	1.75 (0.98 –3.12)	0.059
	No	17	69	86		
Gestational Age	<32 weeks	23	55	78	1.07 (0.62-1.85)	0.806
	≥ 32 weeks	33	92	125		
Diagnosis	PPROM‡	26	77	103	1.24 (0.71- 2.17)	0.447
	PTL§	30	70	100		
Urinary tract infection	Yes	42	136	178	**2.60 (1.18 –5.37)**	**0.017**
	No	8	4	12		
Primigravid	Yes	23	52	75	1.40 (0.76-2.60)	0.285
	No	33	95	128		
Mean birthweight (g) ± SD‖		2147 ± 762	2361 ± 744		0.51 (0.22–1.16)	0.105

*Adjusted Risk Ratio †Confidence Interval ‡Preterm PROM §Preterm labor ‖Standard deviation

3.2. Artigo 2

carlos

De: "Journal of Perinatal Medicine" <jpm.editorial@degruyter.com>
Para: <mlnomura@unicamp.br>
Enviada em: terça-feira, 23 de novembro de 2004 09:14
Assunto: Submission Confirmation for Selective versus non-selective culture medium for Group B Streptococcus detection in pregnancies complicated by preterm labor or preterm premature rupture of membranes.

Dear Dr. NOMURA,

Your submission entitled "Selective versus non-selective culture medium for Group B Streptococcus detection in pregnancies complicated by preterm labor or preterm premature rupture of membranes." has been received by Journal of Perinatal Medicine.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is http://jpm.edmgr.com/.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Journal of Perinatal Medicine
Editorial Office

Nomura ML, Passini Júnior R, Oliveira UM.

Selective versus non-selective culture medium for Group B Streptococcus detection in pregnancies complicated by preterm labor or preterm premature rupture of membranes.

Journal of Perinatal Medicine (submitted)

Authors:

Marcelo Luís Nomura, M.D.*

Renato Passini Júnior, M.D., Ph.D.*

Ulysses Moraes Oliveira, M.D., Ph.D.**

* Department of Obstetrics and Gynecology, Medical School, University of Campinas, São Paulo State, Brazil.

** Department of Clinical Pathology, Medical School, University of Campinas, São Paulo State, Brazil.

Corresponding author: Marcelo Luís Nomura

Address: Rua Alexander Fleming, 101

Cidade Universitária Zeferino Vaz –

Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher -Universidade Estadual de Campinas-

Campinas - São Paulo State - Brazil

CEP 13084-881

Email: mlnomura@unicamp.br

Abstract

Objective: to identify group B streptococcus (GBS) colonization rates and to compare detection rates of selective versus non-selective culture medium and anorectal versus vaginal cultures in women with preterm labor and preterm premature rupture of membranes (PROM). **Methods:** a prospective cohort study of 203 women was performed. Two vaginal and two anorrectal samples from each woman were collected using sterile swabs. Two swabs (one anorrectal and one vaginal) were placed separately in Stuart transport media, and cultured in blood-agar plates for 48 hours; the other two swabs were inoculated separately in Todd-Hewitt selective media for 24 hours and then subcultured in blood-agar plates. Final GBS identification was made by the CAMP test. **Results:** 132 cultures out of 812 collected were positive. Maternal colonization rate was 27.6%. Colonization rates were 30% for preterm PROM and 25.2% for preterm labor. Todd-Hewitt selective medium detected 87.5% and non-selective medium 60.7% of GBS positive women. Vaginal samples and anorectal samples had the same detection rate of 80.3%. Anorectal selective cultures detected 75% of carriers; 39% of GBS-positive women were detected only in selective medium. **Conclusions:** A combined vaginal-anorectal selective culture is appropriate for GBS screening in this population, minimizing laboratory costs.

Introduction

Streptococcus agalactiae, or group B streptococcus (GBS) is an important agent in perinatology and is the predominant bacteria in early-onset neonatal sepsis [13,5] .GBS can be acquired during labor or in utero by transmission from

maternal vaginal or anorectal colonized mucosa. Prematurity is also a risk factor, and mortality is higher in preterm newborns than in term ones [2].

Maternal colonization reported rates are quite variable, but in general ranges from 20-30% [1,12]. The differences in colonization rates depend on the studied population and mostly on the laboratory methods used to identify GBS. Since maternal colonization at delivery is the main risk factor for neonatal disease [1], microbiology techniques must be appropriate in order to maximize detection rates.

The use of selective media containing antibiotics is reported to be a sensitive and also the most adequate method for detection [12]. The anatomic site of sampling is also important and anorectal and vaginal cultures are recommended for detection in pregnant women [9].

The objective of this study was to analyze culture methods for the detection of GBS in pregnancies complicated by preterm labor (PTL) or preterm premature rupture of membranes (PPROM), comparing Todd-Hewitt selective medium with non-selective medium and anorectal with vaginal samples.

Material and Methods

During the period between February 2003 and January 2004, 203 pregnant women with preterm labor or preterm premature rupture of membranes were enrolled and included in the study at the Maternity of the Campinas State University, located in Campinas, state of São Paulo, Brazil. All participating women signed an informed consent.

Samples were collected at the proximal third of the vaginal introitus and inside the anus through the anal sphincter. Two vaginal and two anorectal sterile swabs were obtained from each woman. Two swabs (one vaginal and one anorrectal) were separately placed in two tubes containing Stuart transport media, and then cultured in non-selective 5% blood-agar plates for 48 hours. The other two swabs were inoculated separately into Todd-Hewitt selective broth medium, enriched with gentamicin and nalidixic acid, incubated for 24 hours and after this subcultured for 24 hours in non-selective 5% blood-agar plates. The final identification of GBS was made by the CAMP test.

Four types of culture were then identified: selective anorectal, non-selective anorectal, selective vaginal and non-selective vaginal. A woman was considered colonized if any of the four cultures was positive.

Detection rates for each type of culture medium and site of sampling were calcutated. Chi-square or Fischer´s exact test were performed for significance of differences, and p value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

There were 132 (16,2%) positive cultures among 812 collected specimens of 203 pregnant women. Fifty-six women (27.6%) had at least one of the cultures positive. Table 1 shows clinical and obstetric characteristics of the women enrolled in the study. White race and low education level were significantly associated with colonization.

Colonization rates for women in preterm labor were 25.2% and for women with preterm premature rupture of membranes was 30%.

Sixteen women (7.8%) had all of the four cultures positive. Selective anorectal cultures were positive in 42 patients (20.7%) and selective vaginal in 38 (18.7%). Non-selective anorectal cultures were positive in 24 patients (11.8%) and non-selective vaginal in 28 (13.8%). Table 2 shows the comparison of the selective versus non-selective cultures. In 29 women, there was discordance in the results. Twenty-two, or 39.2% of all the colonized women, were detected only in the selective media cultures.

Table 3 shows culture results by site of sampling. Discordance between results was observed in 22 women. However, the number of colonized women detected by each one of the cultures was the same (45 each, or 80.3% of all colonized women).

There was no difference in detection rates by selective and non-selective culture medium in relation to admission diagnosis: preterm labor or preterm premature rupture of membranes (table 4).

Figure 1 shows the percentage of positive cultures by type of culture medium and site of sampling. Selective media detected 87.5% of the 56 colonized women, compared to 60.7% detected by non-selective cultures. There was no difference in the detection rate between anorectal and vaginal samples (80.3%).

Discussion

Screening of group B streptococcus colonization is recommended for all pregnant women between 35 and 37 weeks, and in situations of risk of preterm delivery, which are preterm labor and preterm premature rupture of membranes

[12]. Antibiotic prophylaxis during labor for colonized women greatly reduces the risk of neonatal disease [14].

Several authors have demonstrated that GBS isolation is 20-40% greater when combined vaginal and anorectal cultures are collected [6,7,9,11]. A significant proportion of women have only one of these sites colonized, and this proportion is 18-24% higher in anorectal samples compared to vaginal samples [7,11]. In an analysis of 651 specimens, the combination of anorectal and vaginal cultures reduced the number of false-negative results, allowing detection of 97.8% of GBS carriers [8]. Since there are no published data comparing risk of neonatal disease by anatomic site colonized, it is recommended that both vagina and rectum be cultured [12].

In this study, eleven patients were detected only in vaginal and another eleven only in anorectal cultures, but the number of carriers detected would have been the same if only one of these sites was sampled. However, anorectal selective medium detected 75% of GBS carriers.

Todd-Hewitt selective medium enriched with gentamicin and nalidixic acid inhibits growth of gram-negative bacteria, and it has greater sensitivity when compared to other non-selective media, such as blood-agar or Granada [4]. Twenty-two, or 39% of all colonized women in this study, were detected only in the samples incubated in Todd-Hewitt medium. The proportion of colonized women detected by the selective medium was 87,5%, and fifteen patients would not be detected if only non-selective medium was used; thus the detection rate would fall 30%. This finding supports the current view that selective medium is fundamental to maximize detection rates and should be employed by laboratories involved in screening practices of pregnant women [12].

In the clinical scenarios where this screening was made, a critical issue is the time needed to get reliable results of the cultures, which is 48 hours with the methods recommended by CDC. Preterm labor and premature rupture of membranes are high-risk situations for early-onset sepsis, in which adequate intrapartum antibiotic prophylaxis is necessary. Rapid identification tests would be more suitable, since reliable and immediate results would be available, avoiding unnecessary antibiotics prescription. The only FDA approved rapid test is a real-time PCR assay (IDI-Strep B®), which has high sensitivity and specificity [10].

A study evaluating maternal colonization rates in 34 reports from developing countries found a prevalence of 12.7%. However, when considering only those studies in which adequate laboratory methods were used (use of selective culture medium and collection of vaginal specimens), this rate rises to 17.8%. In almost half of the patients included in this analysis, inappropriate microbiology methods were used [16].

The economic costs of maternal universal screening must be considered. We believe that given the enormous amount of money spent in intensive care units to care for infected newborns, and later to treat long-term disabilities caused by neonatal disease, the cost-benefit ratio favors culture screening. The Centers for Disease Control and Prevention estimated that $300 million dollars were spent in a year to treat almost 7500 cases of GBS early-onset disease [3]. There is no published evaluation of this issue in developing countries.

In women with preterm labor, with a prevalence of 25.2% of GBS-positive mothers, starting penicilin before culture results would result in an overtreatment of three out of four patients. This combined strategy of culturing women at risk

while prescribing antibiotics has not been evaluated in a basis of cost, which implies not only in culture and antibiotic prices, but also in pediatric care after birth. In our country, penicilin is a low cost antibiotic.

In this study, selective culture medium yielded the highest detection rates, with no difference between anorectal anal vaginal samples. The proposed combined anorectal and vaginal swab directly inoculated in one tube containing Todd-Hewitt medium would cost nearly two american dollars in brazilian currency per patient. We believe that this low cost would be feasible even for universal screening at our maternity. This strategy was compared with delayed inoculation after sampling in transport media and had better results, with enhanced detection rates [15].

Conclusions

The use of Todd-Hewitt selective medium yielded greater detection rates than non-selective media. There was no difference in detection rates between vaginal and anorectal samples, however anorectal selective cultures detected more colonized women than the other three types of cultures.

From a practical standing point, a unique combined vaginal-anorectal sample incubated in selective medium is appropriate. This strategy would minimize laboratory costs without compromising maximum detection capacity, which is crucial for prevention of early-onset neonatal disease.

References

1- Benitz WE, JB Gould, ML Druzin. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. Pediatrics. (1999) 103(6):77.

2- Benitz WE. Perinatal treatment to prevent early onset group B streptococcal sepsis. Semin Neonatol. (2002) 7(4):301-14.4

3- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. MMWR Recomm Rep. (1996) 45(RR-7):1-24.

4- Gupta C, LE Briski. Comparison of two culture media and three sampling techniques for sensitive and rapid screening of vaginal colonization by group B streptococcus in pregnant women. J Clin Microbiol. (2004) 42:3975-7.

5- Hyde TB, TM Hilger, A Reingold, MM Farley, KL O'Brien, A Schuchat. Active Bacterial Core surveillance (ABCs) of the Emerging Infections Program Network.Trends in incidence and antimicrobial resistance of early-onset sepsis: population-based surveillance in San Francisco and Atlanta. Pediatrics. (2002) 110:690-5.

6- Jaureguy F, M Carton, J Teboul , MJ Butel,P Panel, JC Ghnassia, F Doucet-Populaire. Risk factors and screening strategy for group B streptococcal colonization in pregnant women: results of a prospective study. J Gynecol Obstet Biol Reprod (2003) 32(2):132-8.

7- Madani TA, GK Harding, M Helewa, MJ Alfa. Screening pregnant women for group B streptococcal colonization. Infection. (1998) 26(5):288-91.

8- Platt MW, JC McLaughlin, GJ Gilson, MF Wellhoner, LJ Nims. Increased recovery of group B Streptococcus by the inclusion of rectal culturing and enrichment. Diagn Microbiol Infect Dis. (1995) 21(2):65-8.

9- Philipson EH, DA Palermino, A Robinson. Enahanced antenatal detection of group B Streptococccus colonization. Obstet Gynecol (1995) 85:437-9.

10- Picard FJ, MG Bergeron. Laboratory detection og group B Streptococcus for prevention of perinatal disease. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2004) 23:665-71.

11- Quinlan JD, DA Hill, BD Maxwell, S Boone, F Hoover, JJ Lense. The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B streptococcus screening during pregnancy. J Fam Pract. (2000) 49(5):447-8.

12- Schrag S, R Gorwitz, K Fultz-Buts, A Schuchat. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. MMWR (2002) 51(RR-11):1-22.

13- Schuchat A, SS Zywicki, MJ Dinsmoor, B Mercer, J Romaguera, MJ O'Sullivan MJ et al. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. Pediatrics. (2000) 105(1 Pt 1):21-6.

14- Schuchat A. Group B streptococcal disease: from trials and tribulations to triumph and trepidation. Clin Infect Dis. (2001) 33(6):751-6.

15- Silver HM, J Struminsky. A comparison of the yield of positive antenatal group B Streptococcus cultures with direct inoculation in selective growth medium versus primary inoculation in transport medium followed by delayed inoculation in selective growth medium. Am J Obstet Gynecol. (1996) 175(1):155-7.

16- Stoll BJ, A Schuchat. Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. Pediatr Infect Dis J. (1998) 17(6):499-503

TABLE 1

Clinical and obstetric Characteristics and maternal colonization

Variable		Colonized	Non colonized	Total		
		n	n		RR* (CI† 95%)	p
Age	< 19	12	26	38	1.7 (0.7–2.02)	0.541
	≥ 19	44	121	165		
Race	White	36	69	105	**1.65 (1.08–2.69)**	**0.027**
	Other	20	78	98		
Low level of education	Yes	37	73	110	**1.70 (1.03–2.81)**	**0.031**
	No	17	69	86		
Gestational Age	<32 weeks	23	55	78	0.90 (0.57–1.41)	0.632
	≥ 32 weeks	33	92	125		
Diagnosis	PPROM‡	30	70	100	1.38 (0.87–2.18)	0.178
	PTL§	26	77	103		
Primigravid	Yes	23	52	75	0.84 (0.54–1.32)	0.452
	No	33	95	128		
Mean birth weight (g) ± SD‖		2147 ± 762	2361 ± 744		1.44 (0.88–2.36)	0.134

*Risk Ratio †Confidence Interval ‡Preterm PROM §Preterm labor ‖Standard deviation

TABLE 2

Results by type of culture medium

Non selective	Selective		
	Positive	Negative	Total
Positive	27 (13.3%)	7 (3.4%)	34 (16.7%)
Negative	22 (10.8%)	147 (72.5%)	169 (83.3%)
Total	49 (24.1%)	154 (75.9%)	203 (100%)

$p < 0.05$

TABLE 3

Culture results by anatomic site

Vaginal	Anorectal		
	Positive	Negative	Total
Positive	34 (16.7%)	11 (5.4%)	45 (22.1%)
Negative	11 (5.4%)	147 (72.5%)	158 (78.9%)
Total	45 (22.2%)	158 (77.8%)	203 (100%)

$p < 0.05$

TABLE 4

Detection rates by type of culture medium and diagnosis

	Selective		Non-selective		
	n	%	n	%	n
PPROM	42	21	28	14	70
PTL	38	18.4	24	11.6	62
Total	80	19.7	52	12.8	132

p>0.05

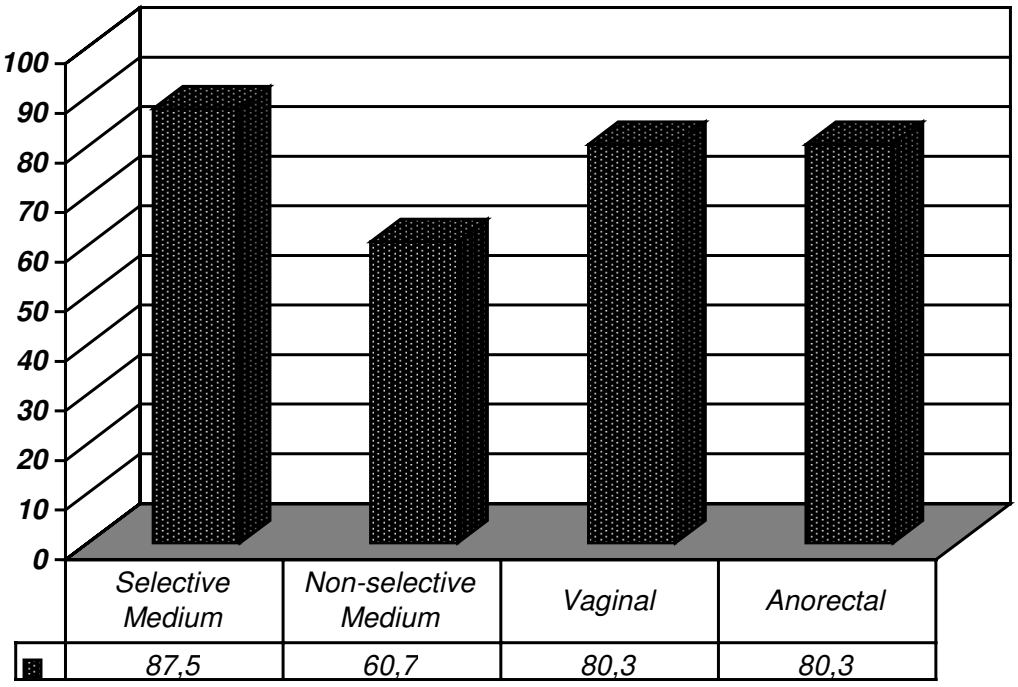


Figure 1: *Detection rates (%) by type of culture medium and anatomic site of sampling (n=56)*

4. Discussão

Nos últimos anos, a infecção neonatal causada pelo Estreptococo do Grupo B (EGB) ganhou notoriedade internacional, principalmente a partir de estudos realizados no Estados Unidos da América do Norte (EUA). Foi demonstrado que havia um elevado número de seqüelas e mortes neonatais atribuíveis a este agente. A partir dos resultados dos primeiros estudos sobre o uso de antibióticos durante o trabalho de parto para evitar a infecção por esta bactéria nos recém-nascidos, criou-se uma consciência generalizada que envolveu não somente o meio médico, mas também a mídia e associações civis de pais, que chamaram a atenção para crianças acometidas que morriam horas após o nascimento, em situações dramáticas (SCHUCHAT, 2001).

Este estudo mostrou taxas elevadas de colonização materna, tanto nas gestantes com trabalho de parto prematuro, como naquelas com ruptura de membranas (25,2% e 30%, respectivamente), com alta incidência de sepse neonatal precoce (10,8 por mil nascidos vivos). Os dados obtidos pela metodologia laboratorial utilizada, recomendada pela literatura como a mais sensível para

detecção do EGB, demonstram o vínculo entre situações de risco de parto prematuro e a doença neonatal. Na população avaliada neste estudo, o meio seletivo foi cerca de 30% superior ao meio não seletivo na detecção do EGB (87,5% *versus* 60,7%), demonstrando a importância deste tipo de cultura. Dezesseis pacientes colonizadas foram detectadas nos dois meios de cultura e sete somente no meio não seletivo. Além disso, a cultura não seletiva anorretal detectou apenas 24 das 56 gestantes colonizadas, o mesmo acontecendo com a cultura vaginal, que detectou 28 gestantes. Fatores de risco sociodemográficos e clínicos não foram importantes na análise multivariada, e apenas a bacteriúria no momento da admissão foi um fator de risco significativo, tanto na análise univariada como na multivariada.

A prevalência de colonização orofaríngea neonatal por EGB foi de 3,1%, menor que a relatada em uma casuística de 842 recém-nascidos do mesmo serviço, que foi de 7,3% (CALIL, 2001). No estudo citado foram colhidas dos recém-nascidos amostras de secreção traqueal e *swabs* retais e de coto umbilical, o que aumenta a possibilidade de isolamento do *Streptococcus agalactiae*.

Neste estudo, dos três recém-nascidos colonizados, dois (66,6%) desenvolveram quadro séptico. Segundo dados da literatura, 2% dos recém-nascidos colonizados podem evoluir com sepse precoce (SCHRAG et al., 2002). Pelo reduzido número de casos, esta comparação não pode ser adequadamente avaliada neste estudo, porém é um aspecto que merece atenção em casuísticas maiores.

O efeito “ponta do iceberg” é responsável pelas variações relatadas na incidência de doença neonatal pela literatura. Muitos casos suspeitos ou de alta

probabilidade não são incluídos nas estatísticas, pois as culturas ou não foram colhidas ou são negativas por interferência de diversos fatores (BEDFORD-RUSSEL et al., 2001). Possivelmente este fato é mais freqüente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, uma vez que a escassez de recursos gera a adoção de protocolos neonatais de investigação e tratamento de infecções mais pragmáticos, reduzindo a confiabilidade de sistemas de vigilância. Isto significa que culturas de recém-nascidos com suspeita de infecção nem sempre são colhidas ou, então, não são adequadamente realizadas. O uso menos seletivo de antibióticos em Neonatologia, baseados em "escores" de risco de infecção, reduz a possibilidade de isolamento do agente, principalmente nos casos mais severos. A falta de dados confiáveis inviabiliza o dimensionamento correto do problema e, por conseguinte, a implementação de medidas de prevenção. Somente a partir do desenvolvimento de sistemas de vigilância integrados nos vários níveis de assistência é que poderão ser tomadas medidas adequadas pelos gestores de hospitais e autoridades de saúde.

Se a possibilidade do EGB ser um importante causador de morbidade e mortalidade neonatais é não somente plausível como muito grande, o caminho parece ser, baseado na extensa literatura disponível, procurar o EGB direta ou indiretamente onde possa ser detectado, antes de causar a doença. Há duas maneiras: pesquisar fatores de risco clínicos e estudar a prevalência de colonização em gestantes com culturas vaginais e anorretais durante o pré-natal e em situações de risco, como as avaliadas neste estudo.

Os fatores de risco sociodemográficos não são preditivos o suficiente para que possam ter alguma utilidade clínica. Não há como selecionar um grupo de risco baseado nestes fatores para indicar rastreamento e, menos ainda, para indicar antibioticoprofilaxia intraparto. Neste estudo, cor branca e baixo nível de escolaridade foram associados à colonização na análise univariada. A subjetividade na interpretação da variável cor da pele, somada à intensa miscigenação que é característica do povo brasileiro, podem ter sido fatores confundidores que levaram a este resultado, discordante da literatura. É interessante notar que estudos norte-americanos apontam mulheres de descendência hispânica e de cor negra como mais freqüentemente colonizadas (REGAN et al., 2001), mas, no entanto, avaliações de prevalência realizadas em alguns países latinos mostram taxas de colonização significativamente inferiores (COLLINS et al., 1998). É provável que diferenças geográficas em sorotipos estejam relacionadas a essa discrepância de resultados.

A bacteriúria assintomática foi freqüente nas gestantes colonizadas detectadas neste estudo (14%). Houve um caso de bacteriúria por EGB mas na maioria das vezes a *Escherichia coli* foi a bactéria isolada. A colonização do trato geniturinário por microorganismos é um fator de risco para a prematuridade e esta hipótese parece confirmada neste estudo, pela alta incidência de partos prematuros em gestantes com bacteriúria.

A maneira como os laboratórios emitem os resultados de exames de urocultura de gestantes com baixas contagens de colônias de bactérias na urina, muitas vezes dadas como negativas, pode impedir que os obstetras tenham conhecimento da presença de patógenos importantes nestas mulheres. É possível,

também, que o valor preditivo da cultura de urina positiva para EGB no primeiro trimestre para colonização no momento do parto seja menor que o atribuído em estudos iniciais, o que resultaria em administração desnecessária de antibióticos profiláticos durante o trabalho de parto. Portanto, em relação aos exames de urina, poderíamos considerar que a melhor conduta seria, além de colher culturas para EGB no final da gestação, também colher culturas de urina no início do 3º trimestre, pois poderíamos atingir um melhor valor preditivo. Neste estudo, a incidência elevada de bacteriúria ressalta a importância da realização da cultura de urina, exame que não está disponível na rotina de pré-natal, nem mesmo da rede básica de saúde de Campinas. A cultura de urina possibilita a identificação do agente e o monitoramento de resistência bacteriana, que são aspectos relevantes, especialmente na gravidez.

A abordagem por fatores de risco clínicos e obstétricos foi inicialmente adotada na América do Norte como estratégia factível e de fácil aplicabilidade. Logo surgiram problemas, como o baixo valor preditivo e a elevada porcentagem de mulheres que receberiam antibióticos desnecessariamente. Em serviços de referência, como o CAISM, onde a incidência de prematuridade é maior e onde a preocupação com a resistência bacteriana é grande, um número significativo de gestantes seriam candidatas à antibioticoprofilaxia com esta abordagem.

Portanto, é fundamental saber o estado de colonização materna. Nos países em desenvolvimento, muitos estudos de prevalência de colonização materna por EGB foram realizados, com resultados bastante variáveis (STOLL e SCHUCHAT, 1998). No entanto, a prevalência média encontrada (18%) não foi muito diferente

da relatada em países desenvolvidos. Este dado levou em conta apenas as avaliações feitas com meio de cultura seletivo e com coleta de culturas vaginais, que corresponderam a cerca de 50% das 7.730 mulheres avaliadas. A prevenção é pouco eficaz se a avaliação da prevalência não for confiável. É necessário que o rastreamento laboratorial seja realizado corretamente. Torna-se mais evidente, então, que o processo de redução da incidência da doença perinatal depende de laboratórios equipados com metodologia adequada.

Outro aspecto relevante na avaliação da prevalência é a ecologia da colonização pelo EGB. A transitoriedade ou a intermitência da colonização é um fator que faz com que o rastreamento não seja totalmente eficaz. Ainda assim, o valor preditivo positivo das culturas é relativamente elevado quando estas são colhidas até seis semanas antes do parto (YANCEY et al., 1996). Nas situações obstétricas analisadas neste estudo, a necessidade de realização de culturas parece ser clara, porém esbarra no tempo necessário para o resultado estar disponível. Recentemente verificou-se que a utilização de placas com meio de Granada modificado reduz para cerca de 24 horas o tempo necessário para obter o resultado, porém isto ainda está longe do ideal (CLAEYS et al., 2001).

A presença da ruptura de membranas pré-termo é um fator de risco reconhecido para sepse neonatal. O EGB e outras bactérias podem estar relacionados à fisiopatologia da ruptura das membranas por ativação de processos inflamatórios, produção de proteases, colagenases, radicais livres e prostaglandinas (ROMERO et al., 2002). Ainda que não relacionado diretamente à gênese da ruptura de membranas, o EGB pode ser altamente prevalente nestas gestantes,

nas quais a susceptibilidade para a ascensão do microorganismo até a cavidade amniótica é maior.

Um aspecto que chama a atenção é a precocidade das manifestações graves da sepse por EGB em recém-nascidos e a mortalidade elevada. Neste estudo, em um dos casos de recém-nascido que desenvolveu sepse precoce, decorreram menos de seis horas entre a ruptura de membranas e o parto, e cerca de 48 horas até o óbito neonatal. Portanto, é possível que ocorra invasão da cavidade amniótica íntegra pelo EGB, com acometimento fetal, causando intensa resposta inflamatória que se expressaria de forma mais evidente logo após o nascimento (DORAN e NIZET, 2004).

Outro importante fator de risco é a presença de febre durante o trabalho de parto. Se a gestante não foi rastreada, é mandatório o uso de antibiótico com cobertura para EGB durante o trabalho de parto. Em um Serviço como este, onde foi feito o estudo, isto é ainda mais importante, uma vez que 30% das gestantes com amniorrexe prematura estavam colonizadas.

A utilização de meio de cultura seletivo contendo antibióticos tem sido recomendada há vários anos. O raciocínio baseia-se no fato de que os principais locais de isolamento do EGB são as mucosas vaginal e anorretal, cuja flora bacteriana é abundante e heterogênea. Desta maneira, a possibilidade de isolamento de uma espécie bacteriana é menor se apenas meios de cultura não seletivos forem utilizados, pois estes detectam somente mulheres com inóculos bacterianos maiores, que caracterizariam colonização maciça. É evidente que a detecção

deste grupo de mulheres é muito importante e pode ser realizada na maioria dos laboratórios com a cultura convencional não seletiva. Este tipo de rastreamento, ainda que imperfeito, traria resultados, identificando as gestantes com maior risco de transmissão vertical. Porém, desta maneira, é pouco provável que se consigam reduções significativas na incidência de doença neonatal.

A taxa de isolamento do EGB neste estudo não foi diferente entre as amostras vaginais e anorretais, embora a cultura anorretal seletiva tenha sido positiva com mais freqüência que as outras. Vários estudos sugerem que as taxas de isolamento são maiores quando se associam as culturas vaginais com as retais (YANCEY et al., 1996; BENITZ et al., 1999; QUINLAN et al., 2000; SCHRAG et al., 2002;). Alguns estudos sugerem que amostras perianais, ou seja, de material colhido do ânus, antes do esfíncter anal, sejam tão adequadas quanto as amostras retais (ORAFU et al., 2002), causando menos desconforto para a gestante. O CDC mantém a recomendação de que as culturas sejam colhidas através do esfíncter (SCHRAG et al., 2002).

A prevalência de colonização foi inversamente proporcional à idade gestacional em gestantes com ruptura prematura pré-termo de membranas, variando de 40% antes de 28 semanas a 25% após 34 semanas. No entanto o número de gestantes com menos de 28 semanas foi pequeno (10) em relação a outros grupos de idade gestacional. Neste grupo pode haver um número maior de mulheres com colonização maciça, com níveis mais baixos de anticorpos protetores ou portadoras de cepas de EGB mais virulentas. Esta hipótese poderia explicar porque a taxa caso-fatalidade também é inversamente proporcional à idade gestacional.

Nas gestantes com trabalho de parto prematuro as taxas de prevalência por grupo de idade gestacional foram maiores que a observada no total. Porém, não houve uma relação clara com a idade gestacional em si.

Seja na presença de fatores de risco clínicos, seja com culturas positivas, a intervenção médica para prevenção da doença neonatal será a mesma, ou seja, antibioticoprofilaxia durante o trabalho de parto, sendo a penicilina a droga de primeira escolha.

Desconhece-se o impacto de prescrever antibióticos para 20% a 30% das gestantes, mesmo por curto período de tempo e questiona-se quais seriam as conseqüências a longo prazo. A preocupação inicial nos EUA surgiu logo após a divulgação das diretrizes revisadas do CDC em 2002, com relatos de cepas de *Escherichia coli* resistentes a ampicilina causando quadros graves e óbitos em recém-nascidos de muito baixo peso. Não há conclusões definitivas, porém é pouco provável que os achados em recém-nascidos de faixa de peso tão baixa e, provavelmente, prematuros extremos, sejam generalizáveis a todas as outras. No entanto, relatos de aumento da incidência de infecções comunitárias por *Escherichia coli* resistentes a ampicilina (GUPTA et al., 1999) podem direcionar o foco de atenção para o problema da bacteriúria assintomática na gestação. No CAISM, 37,7% das cepas de *Escherichia coli* isoladas em culturas de urina de gestantes foram resistentes a ampicilina (HERRERA e PASSINI Jr, 2001). O uso de antibióticos intraparto pode reduzir o risco de sepse pelo EGB, mas também selecionar bactérias resistentes como a *Escherichia coli*, cuja prevalência é elevada nesta população. Será preciso monitorar os padrões de resistência das

bactérias causadoras de infecções neonatais, principalmente nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.

A interpretação incorreta do sedimento urinário, que na maioria das vezes leva o profissional a prescrever antibióticos desnecessariamente, é um fato observado na prática clínica e que precisa ser corrigido. As conseqüências a longo prazo podem incluir até mesmo a mudança de perfil de resistência bacteriana em unidades de terapia intensiva neonatal. É provável que estas cepas de *Escherichia coli* que desenvolveram mecanismos de resistência tenham adquirido também maior virulência e, assim como o EGB, acometam com maior gravidade os recém-nascidos prematuros. Novamente precisa ser ressaltada a importância da realização da urocultura durante o pré-natal, para correto diagnóstico e orientação terapêutica.

Não há dúvidas que a antibioticoprofilaxia é efetiva na redução da incidência de sepse por EGB, mas apesar do benefício, o risco do uso de antibióticos não está restrito somente aos neonatos. Reações alérgicas maternas à penicilina, de gravidade variável, podem ocorrer e com o uso mais freqüente, estas também serão mais freqüentes (DUNN et al., 1999). Além disso, pode ocorrer uma falsa redução nas taxas positividade de culturas de recém-nascidos. Portanto, eventos associados à exposição materna e fetal a antibióticos, de gravidade considerável, ainda que muito raros, devem ser considerados eventos sentinela que demandem uma reavaliação das recomendações atuais. Tais eventos podem incluir o surgimento de cepas de EGB resistentes à penicilina, que não foram descritas até o momento, aumento na incidência ou na mortalidade neonatal por outras bactérias que suplantem o benefício da antibioticoprofilaxia para o EGB e

aumento no número de relatos de anafilaxia materna grave. Esta vigilância depende de mecanismos de controle estruturados e interligados em todo o país e que avaliem especificamente estas questões.

A questão da resistência do EGB a outros antibióticos restringe as opções disponíveis atualmente. Nos EUA, a resistência tanto à eritromicina quanto à clindamicina é clara, a ponto de o CDC não recomendar o uso destes antibióticos, a menos que se conheça o perfil de resistência do EGB na população. Neste estudo as cepas de EGB isoladas não foram testadas, já que isto não estava previsto nos objetivos iniciais.

Ainda quanto ao uso de antibióticos, após o estudo ORACLE I (KENYON et al., 2001), que evidenciou benefício na redução da morbidade neonatal com o uso de eritromicina em gestantes com ruptura prematura pré-termo de membranas, consolidou-se a idéia do tratamento empírico nesta situação. No entanto, o objetivo primário desta intervenção não era a prevenção da doença neonatal pelo EGB, mas prolongar o período de latência após a ruptura das membranas e reduzir o risco de infecção por outros agentes.

Várias questões precisam ser respondidas a partir do estudo ORACLE. É necessário avaliar se o benefício encontrado se restringiu às gestantes não colonizadas, uma vez que os índices de resistência do EGB a eritromicina são elevados. O período de tempo em que se deve administrar antibióticos a gestantes colonizadas com ruptura prematura pré-termo de membranas sem atividade uterina permanece indefinido, assim como a dúvida em relação ao fato

desta prática aumentar os índices de resistência bacteriana, situação que foi demonstrada em recém-nascidos muito prematuros. Portanto, será necessário fazer uma análise da relação risco/benefício entre uma conduta conservadora, acompanhando gestantes com ruptura de membranas por períodos prolongados e os benefícios do prolongamento da gestação em termos de maturidade fetal, sem descartar os riscos de doença neonatal pelo EGB ou por outros agentes.

À primeira vista pareceria lógico e tentador prescrever antibióticos para gestantes colonizadas com ruptura de membranas, porém não há evidências que justifiquem esta conduta rotineiramente. Estudar a flora vaginal ou a microbiologia do líquido amniótico em gestantes, antes e depois de serem submetidas a antibioticoprofilaxia e tentar avaliar se ocorrem alterações que exponham o feto a bactérias mais agressivas ou resistentes, comparando com a flora isolada na pele ou orofaringe do recém-nascido, pode ajudar a elucidar algumas destas questões.

Se a abordagem por rastreamento é mais efetiva, há diversos fatores de ordem prática, no entanto, que podem reduzir esta eficácia. Estes envolvem a implementação de todas as medidas logísticas, como a integração entre laboratórios e serviços de assistência pré-natal, a conscientização de profissionais responsáveis pelo atendimento, a coleta em tempo adequado e a disponibilidade dos resultados das culturas no momento do parto. Além disso, foi demonstrado neste estudo que gestantes com risco de parto prematuro e com as elevadas taxas de colonização observadas constituem uma população que pode não ser contemplada de maneira adequada pelos protocolos atuais, que consideram como padrão-ouro a cultura

em meio seletivo, sem levar em conta o tempo dispendido para sua realização. O próprio CDC não consegue responder com clareza esta questão.

Não se espera que o rastreamento previna todos os casos. Para uma pequena porcentagem de mulheres, aparentemente não há intervenções durante o pré-natal ou o parto que possam reduzir o risco. É difícil quantificar ou estimar o risco de falha do antibiótico. Assim como ocorreu nos dois casos descritos no estudo, o intervalo mínimo de tempo entre o início da profilaxia e o parto pode não ser suficiente, provavelmente porque não se atingem níveis terapêuticos no líquido amniótico e porque o trabalho de parto pode evoluir rapidamente.

Falhas em outros níveis podem ocorrer, desde prescrição incorreta, interpretação equivocada dos fatores de risco clínicos, a indisponibilidade do resultado das culturas e até mesmo situações em que o protocolo é seguido e a doença neonatal ocorre. Gestantes em trabalho de parto prematuro com apresentação pélvica e membranas rotas, ou qualquer outra situação obstétrica emergencial que demande parto imediato, constituem um grupo à parte.

Alternativas como a desinfecção vaginal com clorexidine foram propostas, principalmente em países com elevada incidência de doença neonatal e com escassez de recursos (STRAY-PEDERSEN et al., 1999).

Estudos com vacinas estão em fase II, porém estudos em fase III ainda não foram realizados devido a aspectos éticos relacionados à pesquisa em gestantes. Portanto, esta não é uma alternativa viável a curto prazo (SCHRAG, 2004).

A procura por um teste rápido adequado permitiria a identificação das gestantes colonizadas, não rastreadas durante o pré-natal, no momento do parto, e reduziria a administração indevida de antibióticos. Como exposto, 25% das mulheres com trabalho de parto prematuro e 30% das mulheres com ruptura prematura pré-termo de membranas estavam colonizadas neste estudo e seriam candidatas a antibioticoprofilaxia. Porém, pela limitação de tempo e seguindo as diretrizes revisadas do CDC (SCHRAG et al., 2002), três em cada quatro mulheres receberiam antibióticos desnecessariamente. O teste rápido parece ser a resposta que todos procuram para melhor conduzir as situações de risco de parto prematuro. Mas, talvez, o grande valor do teste rápido, enquanto o custo ainda for elevado para aplicação generalizada, está na futura realização de estudos de prevalência de colonização em mulheres em trabalho de parto prematuro ou de termo e em seus recém-nascidos, que pode ser de grande valia na pesquisa da importância local do EGB como patógeno perinatal.

A capacidade de implementação efetiva em grande escala de testes baseados na reação em cadeia de polimerase ainda está por ser avaliada, não somente pelos custos elevados, como pela necessidade de se dispor de um laboratório que seja capaz de realizar o teste a qualquer hora.

Se os recursos são escassos para a implementação de testes com tecnologia de ponta, em relação às culturas esta realidade é diferente. No Brasil, por recomendação do próprio Ministério da Saúde, recursos são dispendidos no rastreamento e prevenção de infecções congênitas, cuja prevalência é muito inferior à doença perinatal causada pelo EGB.

O meio seletivo de Todd-Hewitt custa em torno de R$ 2,20 e a placa de ágar-sangue em torno de R$3,40 a unidade. Pelos dados obtidos neste estudo é necessário um *swab* combinado vaginal-anorretal, que seria inoculado diretamente no meio de Todd-Hewitt (dispensando o custo do meio de transporte, que é mais caro) e repicado em placa de ágar-sangue. Em relação ao material para identificação do EGB, o custo seria em torno de R$6,00 por gestante, com capacidade de detecção em torno de 87,5%. O custo anual, estimando um número de partos no CAISM, por ano, em torno de 2.500, seria por volta de R$15.000,00. Extrapolando para toda a rede de atendimento pré-natal da cidade de Campinas, com dados da Secretaria de Saúde de 13.349 nascidos vivos em 2003 (dados obtidos no site http://www.campinas.sp.gov.br/saude/o_sus_cps.htm), cerca de R$80.000,00 seriam gastos para rastrear estas gestantes. Devem ser agregados a este custo os recursos humanos envolvidos na realização de cerca de mil exames ao mês. Não há estimativas confiáveis dos gastos com tratamento de recém-nascidos infectados em unidades de terapia intensiva neonatal e tratamento das seqüelas tardias, porém a relação custo-benefício do rastreamento sistemático foi demonstrada em outros países (MOORE et al., 2003) e merece também ser estudada aqui.

Mesmo em um serviço universitário, com protocolos estabelecidos, houve dificuldades iniciais na sistematização da coleta e processamento das culturas. O tempo mostrou que a incorporação de determinadas rotinas que inicialmente são parte de projetos de pesquisa não é tão difícil quanto parece. Mesmo após o encerramento da fase de coleta das culturas, permaneceu nos profissionais envolvidos (médicos residentes, contratados e docentes) a sensação que esta

conduta deveria continuar. Parece que seguir adiante neste tipo de pesquisa será mais fácil, pois a conscientização do problema atingiu a maioria.

Há muito o que fazer e muitas questões não resolvidas, não estudadas ou ainda desconhecidas. É preciso agilizar as ações de conscientização de gestores, profissionais da saúde e pesquisadores, pois há quase vinte anos os países desenvolvidos têm se preocupado com a doença perinatal por EGB. Nestes países, dúvidas e problemas continuam surgindo, mas a atenção e a vigilância são contínuas. Em nosso meio é preciso, ainda, avaliar a prevalência de colonização em gestantes no terceiro trimestre no maior número possível de mulheres (um estudo multicêntrico seria o mais adequado), estudar o perfil de susceptibilidade aos antibióticos das cepas de EGB e avaliar a longo prazo os efeitos da adoção do protocolo de prevenção baseado no rastreamento, em especial em relação a antibioticoprofilaxia. Atenção especial deve ser dada aos resultados neonatais, que precisam ser analisados juntamente com os dados de vigilância das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar.

A preocupação com o EGB deve estar presente se quisermos reduzir uma das grandes complicações que atingem os recém-nascidos, que é a sepse neonatal, e os resultados deste estudo justificam a importância deste agente em nosso meio, principalmente em situações de risco de parto prematuro.

5. Conclusões

Apesar da escassez de dados, acredita-se que o EGB seja um problema de saúde pública também no Brasil, e que,da mesma maneira com que foi enfrentado em outros países, precisa ser adequadamente avaliado neste país. A falta de programas integrados de vigilância de infecções neonatais dificulta a conscientização dos administradores de recursos.

Os dados obtidos neste trabalho levam a crer que o rastreamento sistemático de gestantes com trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas é necessário. A prevalência de colonização materna foi elevada, levando-se em consideração que as situações clínicas estudadas eram de risco maior de doença neonatal e que a metodologia laboratorial seguida foi a recomendada pela literatura.

A associação de colonização materna pelo EGB com bacteriúria assintomática, observada neste estudo, destaca não só a importância da infecção urinária como fator associado ao parto prematuro nesta população, como ressalta a necessidade da realização de uroculturas durante o pré-natal e de tratar corretamente as

mulheres, para reduzir as complicações observadas. Eventualmente pode ocorrer algum mecanismo imunológico que possa ser responsável pela associação entre colonização do trato urinário por vários agentes bacterianos e colonização materna por EGB, mas esta possibilidade ainda precisa ser estudada.

Apesar da taxa de colonização neonatal ter sido baixa nesta população (3,1%), a incidência de sepse neonatal precoce foi elevada, confirmando o vínculo existente entre a prematuridade e a doença neonatal. Além disso, é preciso adotar um programa de vigilância de resistência bacteriana, uma vez que o protocolo atual do serviço segue a abordagem por fatores de risco, com tendência à prescrição de antibióticos para um número maior de gestantes. Este tipo de abordagem é inferior ao rastreamento sistemático no final da gestação, prevenindo um número menor de casos de doença neonatal.

O rastreamento pode ser feito com menor custo, padronizando a coleta de um *swab* vaginal-anorretal, inoculado diretamente no meio de cultura seletivo, dispensando o meio de transporte, uma vez que este estudo demonstrou que a informação clínica pode ser precisa e confiável através desta metodologia, detectando 87,5% das portadoras do EGB.

Portanto, acreditamos que seja possível para instituições envolvidas na assistência ao pré-natal e parto adotar o rastreamento microbiológico universal entre 35 e 37 semanas de gestação com culturas, da maneira proposta a partir dos dados obtidos no estudo e a um custo acessível. Esta proposta deveria ser discutida amplamente com autoridades de saúde e formadores de opinião.

Concluímos, também, que será necessário conscientizar todos os profissionais envolvidos nestas rotinas - incluindo obstetras, neonatologistas, infectologistas, microbiologistas e administradores de recursos - de que se trata de situação amplamente estudada na literatura, que existe uma intervenção eficaz e que os benefícios até o momento suplantam os riscos conhecidos.

Não há perspectivas em curto prazo que sejam factíveis e aplicáveis à realidade brasileira, a não ser seguir protocolos já avaliados em outros países. Acreditamos que estudos como este, mais do que simplesmente estudar a prevalência e os métodos laboratoriais, podem despertar a comunidade médica para um problema real e negligenciado, cujo custo é incalculável para recém-nascidos, suas mães e para a sociedade brasileira.

6. Referências Bibliográficas

ADAIR, C.E.; KOWALSKY, L.; QUON, H.; MA, D.; STOFFMAN, J.; MCGEER, A. et al. Risk factors for early-onset group B streptococcal disease in neonates: a population-based case-control study. ***CMAJ***, 169:198-203, 2003.

ALLEN, U.D.; NAVAS, L.; KING,S. M. Effectiveness of intrapartum penicillin prophylaxis in preventing early-onset group B streptococcal infection: results of a meta-analysis. ***CMAJ***, 149:1659-65, 1993.

ACOG. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion: number 279, December 2002. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. ***Obstet Gynecol***, 100:1405-12, 2002.

ANDREU, A.; ORTEGA, E.; PLANES, A. M.; SALCEDO, S. Evolution of perinatal *Escherichia Coli* disease in the era of group B streptococcus prophylaxis. ***Med Clin***, 117:521-4, 2001.

BAKER, C.J.; EDWARDS, M. S. Group B streptococcal infections. In: REMINGTON, J.; KLEIN, J. O. (eds). **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**. 4th ed., Philadelphia: WB Saunders; 1995. p.980-1054.

BAKER, C.J. Inadequacy of rapid immunoassays for intrapartum detection of group B streptococcal carriers. ***Obstet Gynecol***, 88:51-5, 1996.

BAKER, C.J. Group B streptococcal infections. ***Clin Perinatol***, *24*:59-70, 1997.

BAKER, C.J.; PAOLETTI, L.C.; WESSELS, M.R.; GUTTORMSEN, H.K.; RENCH, M.A.; HICKMAN, M.E. et al., Safety and immunogenicity of capsular polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccines for group B streptococcal types Ia and Ib. ***J Infect Dis***,179:142-50, 1999.

ALTIMORE, R.S.; HUIE, S.M.; MEEK, J. I.;SCHUCHAT, A.; O'BRIEN, K.L. Early-onset neonatal sepsis in the era of group B streptococal prevention. ***Pediatrics,*** 108:1094-8, 2001.

BARROS, A.J.D.; HIRAKATA, V.N. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. ***BMC Med Res Methodol***, 3:21-34, 2003

BEARDSALL, K.; THOMPSON, M.H.; MULLA, R.J. Neonatal group B streptococcal infection in South Bedfordshire, 1993-1998. ***Arch Dis Child Fetal Neonatal***, 82:205-7, 2000.

BEDFORD-RUSSELL, A.R.; BREATHNACH, A.; SENDER, P. Confirmed group B streptococcus infection: the tip of the iceberg. ***Arch Dis Child Fetal Neonatal,*** 84:140, 2001.

BENCHETRIT, L.C.; FRACALANZZA, S.E.; PEREGRINO, H.,CAMELO, A.A.; SANCHES, L.A. Carriage of Streptococcus agalactiae in women and neonates and distribution of serological types: a study in Brazil. ***J Clin Microbiol***, 15:787-90, 1982.

BENET P.R.; ROSE M.P.; LYATT L.; ELDER M.G.. Preterm labor: stimulation of arachdonic acid metabolism in human amnion cells by bacterial products. ***Am J Obstet Gynecol***, 156*:*649-55, 1987.

BENITZ, W.E.; GOULD, J.B.; DRUZIN, M.L. Risk factors for early-onset group B streptococcal sepsis: estimation of odds ratios by critical literature review. **Pediatrics,** 103:77-9, 1999.

BENITZ, W.E. Perinatal treatment to prevent early onset group B streptococcal sepsis. ***Semin Neonatol***, 7(4):301-14, 2002.

BERALDO, C.; BRITO, A.S.J.; SARIDAKIS, H.O.; MATSUO T. Prevalência de colonização vaginal e anorretal por estreptococo do grupo B em gestantes no terceiro trimestre. ***RBGO***, 26:543-9, 2004.

BLACKWELL, S.; ROMERO, R.; CHAIWORAPONGSA, T.; KIM, Y.M.; BUJOLD, E.; ESPINOZA, J. et al. Maternal and fetal inflammatory responses in unexplained fetal death. ***Matern Fetal Neonatal Med*****,** 14:151-7, 2003.

BOYER, K.M.; GOTOFF, S.P. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis*.* ***N Engl J Med***, 314:1665-9, 1986.

BRASIL. Conselho Nacional De Saúde/Ministérioda Saúde. Resolução NO. 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética,** 4:15-25, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Gestação de alto risco – Manual Técnico,** 2000. p. 48

BRIGANTI, L.; ARRUDA M.S.; CASTRO, E.B.; NOMURA, M.L.; PASSINI JÚNIOR, R. Sofrimento fetal anteparto e sepse intra-uterina por estreptococo do grupo B (poster). In: VII CONGRESSO PAULISTA DE OBSTETRÍCIA e GINECOLOGIA, 2002, São Paulo-SP. **Anais**. São Paulo, 2002.

BROZANSKY, B.S.; JONES, J.G.; KROHN, M.A.; SWEET, R.L. Effect of a screening-based policy on prevalence of early-onset group B streptococcal sepsis. ***Obstet Gynecol***, 95:496-501, 2000.

BURNHAM, C.A.D.; TYRRELL, G.J. Virulence factors of groupB streptococci. ***Rev Med Microbiol***, 14:109-18, 2003.

CALIL, R. **Estudo de colonização bacteriana em recém-nascidos e controle de bactérias multirresistentes em berçário de alto risco após instituição de medidas de intervenção**. Campinas, 2001. [Tese - Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP].

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. **MMWR,** 45(No. RR-7), 1996.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Decreasing incidence of perinatal group B streptococcal disease – United States, 1993-1995. **MMWR,** 46:473-7. 1997.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Laboratory practices for prenatal group B streptococcal screening and reporting – Connecticut, Georgia and Minnesota, 1997-1998. **MMWR,** 48: 426-8, 1999.

CHEN, K.T.; TUOMALA, R.E.; COHEN, A.P.; ICHENWALD, E.C.; LIEBERMAN, E. No increse in rates of early-onset neonatal sepsis by non-group B Streptococcus or ampicilin-resistant organisms*. **Am J Obstet Gynecol***, 185:854-8, 2001.

CITERNESI, A.; FORMICA, G.; CARUSO, S.; CURIEL, P. Vaginal colonization of Streptococcus B in pregnancy. ***Minerva Ginecol***, 48:227-33,1996.

CLAEYS, G.; VERSCHRAEGEN, G.; TEMMERMAN, M. Modified Granada agar medium for the detection of group b streptococcus carriage in pregnant women. ***Clin Microbiol Infect***, 7:22-4, 2001.

COLLINS, T.S.; CALDERON, M.; GILMAN, R.H.; CHARACHE, P. Group B Streptococcal colonization in a developing country: its association with sexually transmitted disease and socioeconomic factors. ***Am J Trop Med Hyg*****,** 9:633-6, 1998.

DAVIES, H.D., MILLER, M.A.; FARO,S.; GREGSON D.; KEHL S.C.; JORDAN J.A. Multicenter study of a rapid molecular-based assay for the diagnosis of group B Streptococcus colonization in pregnant women. ***Clin Infect Dis***, 18:1129-35, 2004.

DECLARAÇÃO DE HELSINKE III: Sobre os princípios éticos para pesquisas em seres humanos. (online) Edimburgo, Escócia, 2000 (citada em 7 de outubro de 2000). Avaliável na Internet: http://www.ibemol.com.br/declarações/helsinque

DE CUETO, M.; SANCHEZ, M.J.; MOLTO, L.; MIRANDA, J.A.; HERRUZO, A.J.; RUIZ-BRAVO, A. et al. Efficacy of a universal screening program for the prevention of neonatal group B streptococcal disease. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis***, 4:810-2, 1998.

DORAN, K.S.; BENOIT, V.M.; GERTZ, R.E.; BEALL, B.; NIZET, V. Late-onset group B streptococcal infection in identical twins: insight to disease pathogenesis. ***J Perinatol***, 22:326-30, 2002.

DORAN, K.S.; NIZET, V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. ***Mol Microbiol***, 54:23-31, 2004.

DUNN, A.B.; BLOMQUIST, J.; KHOUZAMI, V. Anaphylaxis in labor secondary to prophylaxis against group B Streptococcus. A case report. ***J Reprod Med***, 44:381-4, 1999.

FEIKIN, D.R.; THORSEN, P.; ZYWICKI, S.; ARPI, M.; WESTERGAARD, J. G.; SCHUCHAT, A. Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women. ***Am J Obstet Gynecol***, 184:427-33, 2001.

GARLAND, S.M.; KELLY, N.; UGONI, A.M. Is antenatal group B streptococcal carriage a predictor of adverse obstetric outcome? ***Infect Dis Obstet Gynecol***, 8:138-42, 2000.

GERDTS, V.; TSANG, C.; GRIEBEL, P.J.; BABIUK, L.A. DNA vaccination in utero: a new approach to induce protective immunity in the newborn. ***Vaccine***, 22:1717-27, 2004.

GILSON, G.J.; CHRISTENSEN, F.; ROMERO, H.; BEKES, K. SILVA, L.; QUALLS, C.R. Prevention of group B streptococcus early-onset neonatal sepsis: comparison of Centers for Disease Control and Prevention screening-based protocol to a risk-based protocol in infants at greater than 37 weeks' gestation. ***J Perinatol***, 20:491-5, 2000.

GRIMWOOD, K.; STONE, P.R.; GOSLING, I.A.; GREEN, R.; DARLOW, B.A.; LENNON, D.R.et al. Late antenatal carriage of group B Streptococcus by New Zealand women. ***Aust N Z J Obstet Gynaecol***, 42:182-6, 2002.

GUPTA, K.; SCHOLES, D.; STAMM, W.E.Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. ***JAMA***, 281:736-8, 1999.

GUPTA, C.; BRISKI, L.E. Comparison of two culture media and three sampling techniques for sensitive and rapid screening of vaginal colonization by group B streptococcus in pregnant women. ***J Clin Microbiol***, 42:3975-7, 2004.

HALLYDAY, E.; FOOTE, K.; DRYDEN, M.; HEARD, M.; DOWN, R.; WARD, J. Universal maternal screening for neonatal group B streptococcal disease. ***Lancet***, 356:1407-8, 2000.

HERBERT, M.A.; BEVERIDGE, C.J.E.; SAUNDERS, N.J. Bacterial virulence factors in neonatal sepsis: group B streptococcus. ***Curr Op Inf Dis***, 17:225-9, 2004.

HERRERA, S.R.F.; PASSINI Jr, R. Bacteriúria assintomática na gravidez: avaliação dos aspectos laboratoriais, microbiológicos e terapêuticos. ***Reprod Clim***, 16(Suppl. 1):56, 2001.

HUNDLEY, A.F.; ONDERDONK, A.B.; GREENBERG, J.A. Value of routine urine culture in the assessment of preterm labor. ***J Reprod Med***, 48:853-7, 2003.

HYDE, T.B; HILGER, T.M.; REINGOLD, A.; FARLEY, M.M.; O'BRIEN, K.L.; SCHUCHAT, A. Active bacterial core surveillance (ABCs) of the emerging infections program network.trends in incidence and antimicrobial resistance of early-onset sepsis: population-based surveillance in San Francisco and Atlanta. ***Pediatrics***, 110:690-5, 2002.

JACOMINA, J.A.A.; GERARDS, L.J.; CATTS, B. P. Maternal carriage and neonatal acquisition of group B streptococci. ***J Infect Dis***, 145:800-3,1982.

JAUREGUY, F.; CARTON, M.; TEBOUL. J.; BUTEL. M.J.; PANEL, P.; GHNASSIA, J.C. et al. Risk factors and screening strategy for group B streptococcal colonization in pregnant women: results of a prospective study. ***J Gynecol Obstet Biol Reprod***, 32:132-8, 2003.

KENYON S.L.; TAYLOR D.J;; TARNOW-MORDI W. ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. ORACLE Collaborative Group. ***Lancet***, 357:979-88, 2001.

KEOGH J.M.; BADAWI N.; KURINCZUK J.J.; PEMBERTON P.J.; STANLEY, F.J. Group B Streptococcus infection, not birth asphyxia. ***Aust N Z J Obstet Gynecol***, 39:108-10, 1999.

KIRCHER, S.M.; MEYER, M.P.; JORDAN, J.A. Comparison of a modified DNA hybridization assay with standard culture enrichment for detecting group B streptococci in obstetric patients. ***J Clin Microbiol***, 34:342-4, 1996.

KROHN, M.A.;HILLIER, S. L.; BAKER, C.J. Maternal peripartum complications associated with vaginal group B streptococcus colonization. ***J Infect Dis*****,** 179:1410-5, 1999.

LEVINE, E.M.; GHAI, V.; BARTON, J.J.; STROM, C.M. Intrapartum antibiotic prophylaxis increases the incidence of gram-negative neonatal sepsis. ***Infect Dis Obstet Gynecol***,7:210-3, 1999.

LIN, F.Y.; WEISMAN, L.E.; AZIMI, P.H.; PHILIPS, J.B. 3RD; CLARK, P.; REGAN, J.; et al.. 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,*** 190:928-34, 2004.

MACKENNA, D.S.; MATSON, S.; NORTHERN, I. Group B streptococcal colonization at term in women who have asymptomatic GBS bacteriuria. ***Infec Dis Obstet Gynecol***, 11:203-7, 2003.

MADANI, T.A.; HARDING, G.K.; HELEWA, M.; ALFA, M.J; Screening pregnant women for group B streptococcal colonization. ***Infection***, 26:288-91, 1998.

MAIN, E. K; SLAGLE, T. Prevention of early-onset invasive neonatal GBS disease in a private setting: the superiority of culture-based protocols. ***Am J Obstet Gynecol,*** 182:1344-54, 2000.

MANNING, S.D.; NEIGHBORS, K.; TALLMAN, P.A.; GILLESPIE B.; MARRS C.F.; BORCHARDT S.M. et al. Prevalence of group B streptococcus colonization and potential for transmission by casual contact in healthy young men and women. ***Clin Infect Dis***, 39:380-8, 2004.

MCKENZIE, H.; DONNET, M.L.; HOWIE, P.W.; PATEL, N.B.; BENVIE, D.T. Risk of preterm delivery in pregnant women with group B streptococcal urinary infections or urinary antibodies to group B streptococcal and E. coli antigens. ***Br J Obstet Gynaecol***, 101:107-13, 1994.

MIURA, E.; MARTIN, M.C. Group B streptococcal neonatal infections in Rio Grande do Sul, Brazil. ***Rev Inst Med Trop Sao Paulo***. 43:243-6, 2001.

MOCELIN, C.O.; CARVALHO, D.A.F.; BRITES, C.; CHRISTOFOLLI, D.; MOCELIN, A.O.; FRACALANZA, S.E.L. et al. Isolamento de Streptococcus agalactiae de gestantes na regiäo de Londrina-PR. ***RBGO,*** 17:915-8, 1995.

MOHAMMAD, M.; MAHDY, Z.A.; OMAR, J.; MAAN, N.; JAMIL, M.A. Laboratory aspects of asymptomatic bacteriuria in pregnancy. ***South Asian J Trop Med Public Health***, 33:575-80, 2002.

MOORE, M.R.; SCHRAG, S.J.; SCHUCHAT, A. Effects os intraprtum antimicrobial prophylaxis for prevention of group B streptococcal disease on the incidence and ecology of early-onset neonatal sepsis. ***Lancet Infect*** *Dis*, 3:201-13, 2003.

MORALES, W.J.; LIM, D.V.; WALSH, A.F. Prevention of neonatal group B streptococcal sepsis by the use of a rapid screening test and selective intrapartum chemoprophylaxis. ***Am J Obstet Gynecol***, 155:979-83,1986.

MORALES, W.J.; LIM, D.V. Reduction of group B streptococcal maternal and neonatal infections in preterm pregnancies with premature rupture of membranes through a rapid identification test. ***Am J Obstet Gynecol***, 157:13-6, 1987.

MUSSI-PINHATA, M.M.; NOBRE, R.A.; MARTINEZ, F.E.; JORGE, S.M.; FERLIN, M.L.; GONCALVES, A.L. Early-onset bacterial infection in Brazilian neonates with respiratory distress: a hospital-based study. ***J Trop Pediatr***, 50:6-11, 2004.

NGUYEN, T.; FUINN, D.A.; RODRIGUEZ, A.; MEHENDALE, R.; QUILLEN, E. Q.; ALBRECHT, L.M. Strategies to decrease costs associated with GBS prophylaxis in preterm gestations. ***Prim Care Update Obstet Gynecol***, 5:148-9, 1998.

ODDIE S.; EMBLETON, N.D. Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study. ***BMJ***, 325:308-12, 2002.

OHLSSON, A.; MYHR, T. L. Intrapartum penicillin prophylaxis of early-onset streptococcal infection. ***CMAJ***, 150:1197-8, 1994.

ORAFU, C.; GILL, P.; NELSON, K.; HECHT, B.; HOPKINS, M. Perianal versus anorectal specimens: is there a difference in Group B streptococcal detection? ***Obstet Gynecol***., 99:1036-9, 2002.

PHILIPSON, E.H.; PALERMINO, D.A.; ROBINSON A. Enhanced antenatal detection of group B streptococcus colonization. ***Obstet Gynecol***, 85:437-9, 1995.

PICARD, F.J.; BERGERON, M.G. Laboratory detection of group B streptococcus for prevention of perinatal disease. ***Eur J Clin Micr Inf Dis***, 23:665-71, 2004.

PLATT, M.W.; MACLAUGHLIN, M.C., GILSON, G.J., WELLHONER, M.F., NIMS, L.J. Increased recovery of group B Streptococcus by the inclusion of rectal culturing and enrichment. ***Diagn Microbiol Infect Dis***, 21:65-8, 1995.

QUINLAN, J.D.; HILL, D.A.; MAXWELL, B.D.; BOONE, S.; HOOVER, F.; LENSE, J.J. The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B streptococcus screening during pregnancy. ***J Fam Pract***, *49*:447-8, 2000.

REGAN, J.A.; KLEBANOFF, M.A.; NUGENT, R. P. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. ***Obstet Gynecol***, 77:604-10, 1991.

ROMERO R.; ESPINOZA J.; CHAIWORAPONGA T.; KALACHE K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. ***Semin Neonatol***, 7:259-74, 2002.

ROSA, C.; CLARK, P.; DUFF P. Performance of a new DNA probe for the detection of group B streptococcal colonization of the genital tract. ***Obstet Gynecol***, 86:509-11, 1995.

ROUSE, D.J.; GOLDENBERG, R.L.; CLIVER S.P.; CUTTER G.R.; MENNEMEYER, S.T.; FARGASON, C.A. Jr. Strategies for the prevention of early-onset neonatal group B streptococcal sepsis: a decision analysis. ***Obstet Gynecol***, 83:483-94, 1994.

SCHRAG, S.J.; ZYWICKI, S.; FARLEY, M.M.; REINGOLD, A.L.; HARRISON, L.H.; LEFKOWITZ, L.B., et al.. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. ***N Engl J Med***, 342:15-20, 2000.

SCHRAG, S.J.; ZELL, E.R.; LYNFIELD, R.; ROOME, A.; ARNOLD, K.E.; CRAIG AS, et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. **N Engl J Med**.;347(4):233-9, 2002a.

SCHRAG S.; GORWITZ, R.; FULTZ-BUTS K., SCHUCHAT A. - Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. ***MMWR*** 51:1-22, 2002b.

SCHRAG, S.J. The past and future of perinatal group B streptococcal disease prevention. ***Clin Infect Dis***, 39:1136-8, 2004.

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

SCHUCHAT, A.; ZYWICKI, S. S.; DINSMOOR, M. J.; MERCER, B.; ROMAGUERA, J.; O'SULLIVAN, M. J. et al. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicentre case-control study. **Pediatrics**, 105: 21-6, 2000.

SCHUCHAT, A., HILGER, T., ZELL, E., FARLEY, M. M., REINGOLD, A.,, HARRISON, L. et al. - Active bacterial core surveillance of the emerging infections program network. **Emerg Infect Dis**. 7(1):92-9, 2001.

SCHWARTZ-LINEK, U.; HOOK, M.; POTS. J.R. The molecular basis of fibronectin-mediated bacterial adherence to host cells. **Molec Microbiol** 52**:**631-41,2004.

SILVER, H.M.; STRUMINSKY, J. A comparison of the yield of positive antenatal group B Streptococcus cultures with direct inoculation in selective growth medium versus primary inoculation in transport medium followed by delayed inoculation in selective growth medium. ***Am J Obstet Gynecol***, 175:155-7, 1996.

SKLOVSKY, E.; BERTSCHINGER, B.; PROCIANOY, R. S. Colonização materna por "streptococcus" do grupo B (SGB). ***J Pediatr***, 52:387-8, 1982.

SMANIA Jr, A.; BENCHETRIT, L. C.; SMÂNIA, E. F. A.; FRACALANZZA, S. E. L. Isolamento de estreptococos do grupo B, de gestantes e neonatos, em Florianópolis, Santa Catarina. ***Rev Bras Anal Clin***,18:103-8, 1986.

SMAILL, F. Intrapartum antibiotics for group B streptococcal colonisation. **Cochrane Database Syst Rev,** (2): CD000115, 2000.

SPELLERBERG, B. Pathogenesis of neonatal Streptococcus agalactiae infections. ***Microbes Infect*****,** 2:1733-42, 2000.

STOLL, B.J., SCHUCHAT, A.. Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. ***Pediatr Infect Dis J***, 17:499-503, 1998.

STRAY-PEDERSEN, B.; BERGAN, T.; HAFSTAD, A.; NORMANN, E.; GROGAARD, J.; VANGDAL, M. Vaginal disinfection with chlorhexidine during childbirth. ***Int J Antimicrob Agents***.;12:245-51, 1999.

TOLOCKIENE E.; MORSING E.; HOLST E.; HERBST A.; LJUNGH A.; SVENNINGSEN N. et al. Intrauterine infection may be a major cause of stillbirth in Sweden. ***Acta Obstet Gynecol Scand***, 80:511-8, 2001.

TOWERS, C. V.; RUMNEY, P. J.; MINKIEWICZ, S. F.; ASRAT, T. Incidence of intrapartum maternal risk factors for identifying neonates at risk for early-onset group B streptococcal sepsis: A prospective study. ***Am J Obstet Gynecol***, 181:1197-202, 1999.

TOWERS, C.V.; BRIGGS, G.G. Antepartum use of antibiotics and early-onset neonatal sepsis: the next 4 years. ***Am J Obstet Gynecol***,187:495-500, 2002.

TSOLIA, M.; PSOMA, M.; GVRILI, S. Group B streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. ***Clin Microbiol Infect***, 9:382-3, 2003.

TUPURAINEM, N.; HALLMAN, M. Prevention of neonatal group B streptococcal disease: intrapartum detection and chemoprophylaxis of heavily colonized parturients. ***Obstet Gynecol***, 73:583-7, 1989.

TYRRELL, G.J.; KENNEDY, A.; SHOKOPLES, S.E.; SHERBURNE, R.K. Binding and invasion of HeLa and MRC-5 cells by Streptococcus agalactiae. ***Microbiology***, 148:3921-31, 2002.

VACILOTO, E.; RICHTMANN, R.; DE PAULA FIOD COSTA, H.; KUSANO, E.J.; DE ALMEIDA, M.F.; AMARO, E.R. A survey of the incidence of neonatal sepsis by group B Streptococcus during a decade in a Brazilian maternity hospital. ***Braz J Infect Dis***, 6:55-62, 2002.

VOLUMENIE, J. L.; FERNANDEZ, H.; VIAL, M.; LEBRUN, L.; FRYDMAN, R. Neonatal group B streptococcal infection. Results of 33 months of universal maternal screening and antibioprophylaxis***. Eur J Gynecol Reprod Biol***, 94*:*79-85, 2001.

WATTS, D.H.; KROHN, M.A.; HILLIER, S.L.; ESCHENBACH, D.A. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and outcome among women in preterm labor. ***Obstet Gynecol***, 79:351-7, 1992.

YANCEY, M. K.; SCUCHAT, A.; BROWN, L. K. The accuracy of late antenatal screening cultures in predciting genital group B streptococcal colonization at delivery. ***Obstet Gynecol***, 88:811-5, 1996.

ZANGWILL, K. M.; SCHUCHAT, A. & WENGER, J. D. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. ***MMWR***, 41:25-32, 1992.

7. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A. – **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4ª ed., Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98 (alterada 2002).

8. Anexos

8.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Pós-Informação

ESTUDO: INFECÇÃO PERINATAL POR ESTREPTOCOCO DO GRUPO B:
ESTUDO DE PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO MATERNA E NEONATAL

Responsável: Marcelo Luís Nomura

Nome da paciente:_____
Idade:____**R.G**_____**H.C:**_____
Endereço:_____

Fui convidada a participar, como voluntária, no estudo desenvolvido por este hospital, sobre a presença da bactéria *streptococcus agalactiae* nas mães e em seus recém-nascidos. Este tipo de pesquisa já foi realizada em outros hospitais do Brasil e de outros países. Sei que esta bactéria pode causar infecções, principalmente no meu filho após o nascimento, e, em mim, após o parto. Fui informada que o resultado deste exame (se a bactéria está presente ou não em mim ou no meu bebê) demora até dois dias. Sei que este estudo implica em colher material através de um swab (tipo cotonete) da região da entrada da minha vagina e do ânus. Sei, que logo após nascer, será colhido, com o mesmo tipo de cotonete, material da região da boca do meu filho. Fui informada que este cotonete será enviado ao laboratório para pesquisar a presença desta bactéria na minha vagina e ânus, e no meu filho. Sei que, caso o exame indique a presença da bactéria em mim ou em meu filho, o médico responsável poderá ter informações importantes sobre o tratamento de alguma infecção, especialmente em meu filho. Fui informada que este estudo poderá beneficiar outras gestantes e seus filhos no futuro, uma vez que o hospital saberá se esta bactéria está presente em muitas outras mulheres ou não, e assim, tomará medidas para prevenir a infecção em outros bebês. Sei que, caso a bactéria esteja presente em mim, precisarei tomar antibióticos durante o trabalho de parto para prevenir a infecção do meu filho por esta

bactéria. Sei que posso desistir de participar do estudo a qualquer momento, sem prejudicar a atenção médica que receberei. Sei que posso tirar qualquer dúvida com relação aos procedimentos adotados em qualquer fase do meu tratamento e do meu filho, e que os meus dados e os dados do meu filho serão mantidos em sigilo pelo pesquisador.

Assinatura da paciente_____
Nome do médico_____
Assinatura do médico_____

Data: ___/___/_____

Telefone para contato em caso de dúvida: 37889304 com Dr. Marcelo Nomura ou telefone do Comitê de Ética em Pesquisa 37888936

8.2. Anexo 2 – Sujeitos e Métodos

- **DESENHO DO ESTUDO**

Estudo de coorte transversal sobre a prevalência de colonização materna e neonatal por Estreptococo do Grupo B em situações de trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura de membranas pré-termo, e avaliação comparativa entre culturas com meio seletivo e não seletivo e entre culturas vaginais e anorretais, realizado na maternidade do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM/UNICAMP), durante o período 20/02/2003 a 27/01/2004.

- **TAMANHO AMOSTRAL**

Foram estudadas 203 gestantes atendidas com diagnóstico de trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas.

- **SELEÇÃO DE SUJEITOS**

1- Critérios de inclusão:

A) Maternos:

- Idade gestacional ≥ a 22 semanas e < 37 semanas, contadas a partir do primeiro dia da última menstruação, ou calculadas a partir de exame ultra-

sonográfico de 1º trimestre, sendo adotado o parâmetro mais confiável para cada paciente.

- Presença de pelo menos um dos diagnósticos abaixo:
    - ✓ Trabalho de parto prematuro: trabalho de parto em gestações com menos de 37 semanas de idade gestacional, caracterizado por contrações uterinas regulares e esvaecimento cervical maior que 50% e/ou dilatação cervical maior ou igual a dois cm (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).
    - ✓ Ruptura prematura de membranas pré-termo: diagnosticada pelo exame clínico e/ou prova de cristalização em lâmina.

B) Recém-nascidos:

- Recém-nascidos de mães incluídas no estudo, que deram à luz no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher;
- Coleta de cultura de secreção de orofaringe.

2- Critérios de exclusão:

A) Maternos:

- Não concordância em participar do estudo;
- Impossibilidade de recuperar os resultados das culturas solicitadas.

B) Recém-nascidos:

- Parto fora do serviço.

- **COLETA DE MATERIAL PARA CULTURA E PROCESSAMENTO**

Um protocolo de atendimento detalhado, com toda a rotina de método de coleta, identificação e envio do material foi distribuído para todos os médicos residentes, médicos contratados e docentes da divisão de Obstetrícia envolvidos no projeto (Anexo 3).

As mulheres atendidas no Pronto Atendimento do CAISM, que preenchiam os critérios de inclusão, eram convidadas a participar do estudo. Após leitura e concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram colhidos, inicialmente, dois *swabs* da região do intróito vaginal, afastando os pequenos lábios, no terço proximal da vagina. Após a coleta vaginal, foram colhidos dois *swabs* anorretais, introduzidos através do ânus até o esfíncter anal. Dois *swabs* (um anorretal e um vaginal) foram inoculados em meio de transporte Stuart, identificados e enviados ao Laboratório de Patologia Clínica (Microbiologia) do Hospital das Clínicas, sendo semeados em placas de ágar-sangue, com leitura após 48 horas. Outros dois *swabs* foram incubados em meio seletivo de Todd-Hewitt por 24 horas e cultivados a seguir em placas de ágar-sangue (Anexo 4).

Para a identificação final do S*treptococcus agalactiae* foi utilizado o teste de CAMP, que se baseia na produção, pela maioria das cepas de EGB, de uma hemolisina difusível, que juntamente com outra hemolisina produzida pelo *Staphylococcus aureus,* causa lise completa das hemácias na placa de ágar-sangue, produzindo uma zona de hemólise característica. Esta hemolisina também é chamada fator CAMP.

Dos recém-nascidos incluídos no estudo, foi colhido material de *swab* de orofaringe, logo após o nascimento, na sala de recepção neonatal, e enviado ao mesmo laboratório para processamento conforme descrito acima para as amostras maternas.

- **VARIÁVEIS E CONCEITOS**

Capítulo 1:

- Variável Dependente:

➢ Colonização materna – detecção de EGB em pelo menos uma das quatro culturas:

✓ Anorretal em meio seletivo

✓ **Anorretal em meio de rotina**

✓ Vaginal em meio seletivo

✓ Vaginal em meio de rotina

- Variáveis Independentes:

➢ Maternas:

✓ Idade: anos completos, referidos pela mulher.

✓ Número de gestações: número de vezes que a mulher engravidou, incluindo a atual.

✓ Cor de pele: branca, negra, parda, outras.

- ✓ Idade Gestacional: tempo de gestação, em semanas completas, calculadas a partir de data de última menstruação confiável e/ou confirmada por ultra-sonografia realizada antes de 20 semanas de gestação.
- ✓ Nível de escolaridade: tempo, em anos, que a mulher refere ter estudado. Classificado em: nenhum, fundamental incompleto, fundamental completo, médio incompleto, médio completo, superior incompleto, superior completo.
- ✓ Infecção do trato urinário (bacteriúria): cultura de urina positiva, com identificação de mais de 100.000 unidades formadoras de colônia de bactérias por ml.
- ✓ Peso ao nascimento: peso, em gramas, do recém-nascido, medido logo ao nascimento.

- Variáveis descritivas:
  - ✓ Infecção neonatal (critérios diagnósticos detalhados no Anexo 5):
    - sepse
    - pneumonia
    - meningite
  - ✓ Óbito neonatal: óbito hospitalar de recém-nascido com mais de 500 g de peso ao nascimento.
  - ✓ Taxa de colonização neonatal: número de recém-nascidos com cultura de orofaringe positiva para EGB, dividido pelo número de nascidos vivos.

- ✓ Taxa de transmissão vertical – número de recém-nascidos colonizados dividido pelo número de mulheres colonizadas.
- ✓ Via de parto – vaginal ou cesárea.

8.2.1.1 Capítulo 2

- Culturas maternas – colhidas das gestantes incluídas no estudo
  - ✓ Local de coleta de material: local de onde foi colhido material para realização de culturas, podendo ser vaginal ou anorretal.
  - ✓ Meio de cultura: tipo de meio utilizado para semear o material coletado das mulheres. Dividido em meio não seletivo e meio seletivo (Todd Hewitt).

Conforme o local e o meio de cultura, as culturas foram classificadas em:

- ♦ Cultura em meio seletivo: qualquer uma das culturas anorretal ou vaginal incubadas em meio seletivo.
- ♦ Cultura em meio não seletivo: qualquer uma das culturas anorretal ou vaginal semeadas diretamente na placa de ágar-sangue.
- ♦ Cultura vaginal: inclui a cultura seletiva e de rotina colhidas da vagina.
- ♦ Cultura anorretal: inclui a cultura seletiva e de rotina colhidas da região anorretal.
  - ✓ Taxa de prevalência de colonização materna – porcentagem de identificação do EGB em pelo menos uma das culturas.

- **COLETA E PROCESSAMENTO DOS DADOS**

Os dados foram coletados prospectivamente pelo pesquisador e armazenados em banco de dados, a partir de uma ficha de coleta de dados (Anexo 6). Os dados foram duplamente digitados e conferidos no software estatístico EPI-INFO, versão 6.04.

- **ANÁLISE DOS DADOS**

Publicação: 1

A análise estatística foi realizada por meio de tabelas 2x2, pelo teste qui-quadrado ou teste t de Student, quando indicado, com um p valor de 0,05 e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Para estudar a associação das variáveis categóricas com a variável resposta, utilizou-se razão de prevalência (IC 95%). Na análise multivariada, as razões de prevalência referentes a cada variável foram ajustadas segundo as demais, através do modelo de regressão de Breslow-Cox, conforme descrito em BARROS e HIRAKATA, (2003).

A análise dos dados utilizou o programa SAS/STAT® versão 8.2.

Publicação 2

A análise foi realizada por meio de tabelas 2x2, pelo teste qui-quadrado ou teste t de Student, quando indicado, com um p valor de 0,05 e intervalo de confiança 95%.

- **ASPECTOS ÉTICOS**

As gestantes participaram do estudo mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1). Como se trata de um programa assistencial, o atendimento prestado a estas mulheres faz parte da rotina do hospital e não de projeto de pesquisa isolado. As gestantes foram informadas oralmente e em linguagem compreensível sobre a justificativa e os objetivos do estudo, bem como sobre o direito de não participar da pesquisa, sem que isto significasse qualquer modificação no atendimento prestado no hospital. Foram igualmente garantidos a privacidade, confidencialidade e anonimato das gestantes e recém-nascidos estudados. Somente a partir da obtenção do consentimento, foi realizada a coleta do material. As mulheres foram informadas sobre os resultados dos exames, a conduta e o seguimento proposto. Desta forma, a participação das mulheres no projeto foi aceita por livre escolha, bem como a concordância com a avaliação de seus dados.

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Tocoginecologia e Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, respeitando-se assim o preconizado pela DECLARAÇÃO DE HELSINKI III (2000) e pela Resolução 196/99 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

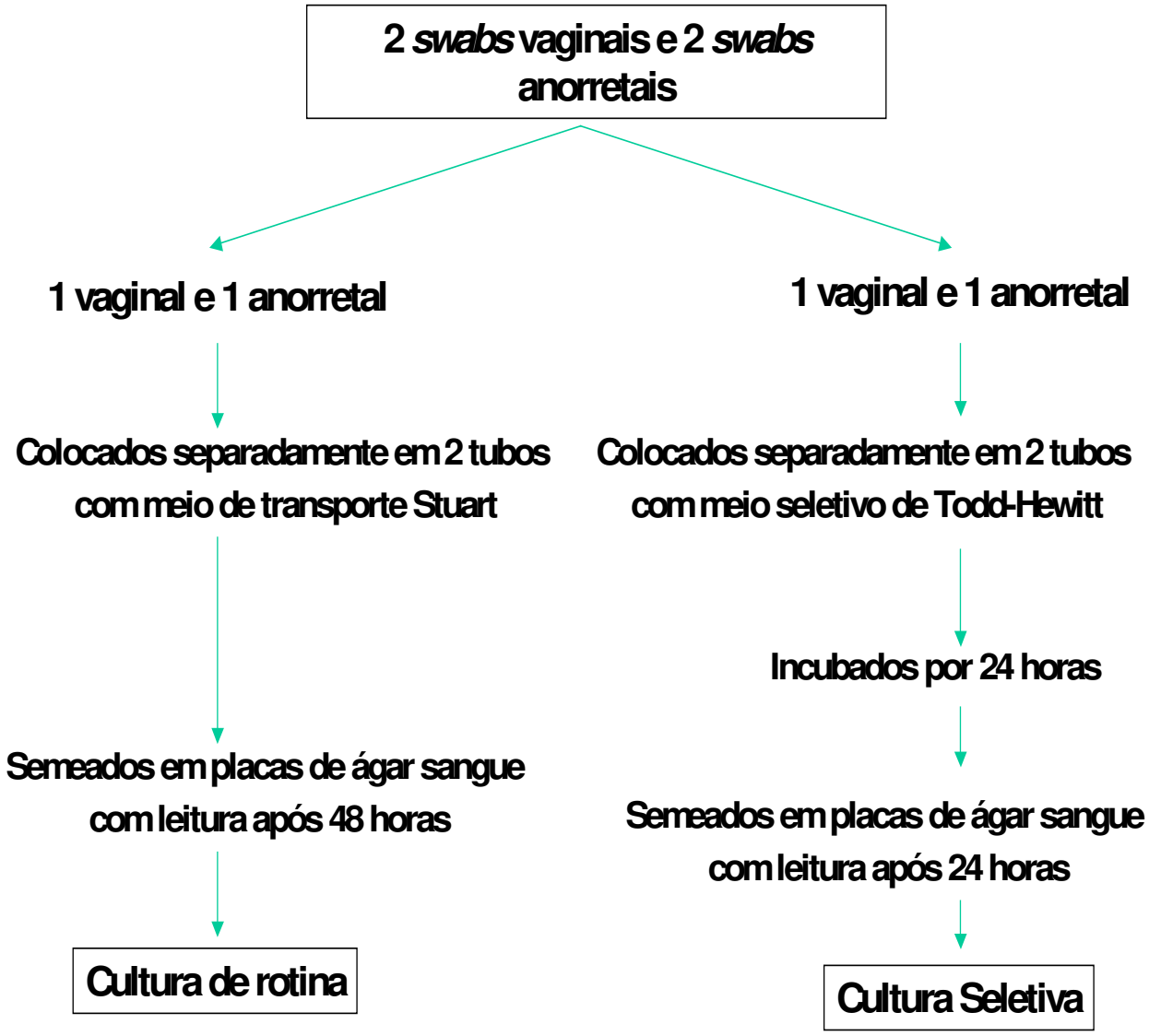
8.3. Anexo 3 – Protocolo de Atendimento

Estudo de prevalência de colonização materna e neonatal por estreptococo do grupo B

TRABALHO DE PARTO PREMATURO
ROTURA PREMATURA PRÉ-TERMO DE MEMBRANAS
PROJETO MARCELO LUÍS NOMURA

1. Critérios de Inclusão
   Idade gestacional < 37 semanas E
   TPP confirmado com critérios de internação para inibição E/OU
   Ruptura prematura de membranas CONFIRMADA (clinica ou laboratorialmente)
2. TOQUE VAGINAL E EXAME ESPECULAR: **NÃO UTILIZAR POVIDINE OU VASELINA**
3. Apresentar a gestante o termo de consentimento informado, e colher sua assinatura e do responsável.
4. As gestantes com bolsa rota em trabalho de parto com necessidade de toque vaginal deverão ter os *swabs* colhidos ANTES DA REALIZAÇÃO DO TOQUE VAGINAL
5. Serão colhidos DOIS *SWABS* de cada local (reto e vagina). Um *swab* seco (que já é usado na rotina) de tampa vermelha e o *swab* contendo um meio de transporte e que é específico do estudo e SOMENTE SERÁ USADO NAS GESTANTES INCLUÍDAS NO ESTUDO.
6. Colher em primeiro lugar os *swabs* do intróito vaginal SEM ESPÉCULO, com luva estéril: afastar os pequenos lábios e introduzir o *swab* no terço proximal da vagina, no máximo 2 cm. Colher o *swab* seco e introduzir o cotonete no tubo contendo o meio seletivo (que estará disponível no PA), homogeneizar e secar levemente pressionando contra a parede do tubo, e reintroduzir imediatamente no frasco do *swab*. Em seguida colher o *swab* com meio de transporte e introduzir no frasco SEM UTILIZAR O MEIO SELETIVO.
7. Colher em segundo lugar os *swabs* retais, introduzindo o cotonete cerca de 3 cm através do esfíncter anal e proceder da mesma maneira descrita acima para o *swab* seco e o *swab* com meio de transporte, utilizando OUTRO TUBO COM MEIO SELETIVO.
8. Após introduzir os cotonetes nos tubos, identificar separadamente (Nome, HC, retal ou vaginal, SBETAB).
9. Enviar ao laboratório de microbiologia, preenchendo o pedido de exames de cor branca com a sigla **SBETAB**, retal e vaginal.
10. Anotar, no prontuário e no cartão de pré-natal, **PROJETO ESTREPTO B**, para que sejam identificadas as gestantes de cujos recém-nascidos será colhido o *swab* de orofaringe ao nascimento.
11. Preencher a ficha de dados, que será armazenada no PA, em uma pasta identificada **PROJETO ESTREPTO B**. Após o preenchimento, colocar a ficha de volta nesta pasta.
12. Preencher o consentimento informado, que será armazenada no PA, em uma pasta identificada **PROJETO ESTREPTO B**. Após o preenchimento, colocar o consentimento de volta nesta pasta.
13. A coleta dos recém-nascidos ficará sob responsabilidade do residente da Pediatria, e o momento da coleta (se na sala de recepção ou na UTI neonatal) será determinado pelo assistente da Neonatologia. Os *swabs* de orofaringe do recém-nascido deverão ser identificados (RN de e HC materno) e enviados ao laboratório de microbiologia com a sigla **SBETAB** no pedido de exames de cor branca. Colher o *swab* seco e introduzir o cotonete no tubo contendo o meio seletivo (que estará disponível na UTI), homogeneizar e secar levemente pressionando contra a parede do tubo, e reintroduzir imediatamente no frasco do *swab*. Em seguida colher o *swab* com meio de transporte e introduzir no frasco SEM UTILIZAR O MEIO SELETIVO.

8.4. Anexo 4 – Metodologia de Processamento das Culturas



8.5. Anexo 5 – Critérios Diagnósticos de Infecção Neonatal

Referência: CALIL R. Diagnóstico das Infecções Hospitalares em Recém-Nascidos. *In Diagnóstico e Prevenção das Infecções Hospitalares em Neonatologia.* Editora APECIH 2002; págs. 29-42.

Sepse: isolamento de um patógeno reconhecido em hemocultura se o patógeno não for relacionado a infecção em outro local OU febre (temperatura > 38° C), hipotermia (T < 37° C), apnéia ou bradicardia acompanhada de isolamento de um contaminante comum de pele em duas hemoculturas colhidas em ocasiões separadas se o patógeno não for relacionado a infecção em outro local;

Pneumonia*:* deverá apresentar pelo menos **um** dos seguintes critérios:
critério 1- pelo menos **dois** dos seguintes sinais ou sintomas sem outra causa reconhecida: apnéia, bradicardia, roncos à ausculta pulmonar ou tosse **e** pelo menos **um** dos seguintes: aumento da produção de secreção respiratória, tornando-se mais purulenta; hemocultura positiva, presença de IgM ou aumento de 4 vezes no título de anticorpos séricos IgG contra determinado patógeno; isolamento de patógeno obtido através de lavado ou escovado brônquio-alveolar ou biópsia; histopatologia evidenciando pneumonia
critério 2: exame radiológico que mostre infiltrado novo ou progressivo, cavitação, consolidação ou derrame pleural **e** pelo menos **um** dos seguintes: aumento da produção de secreção respiratória, tornando-se mais purulenta; hemocultura positiva, presença de IgM ou aumento de 4 vezes no título de anticorpos séricos IgG contra determinado patógeno; isolamento de patógeno obtido através de lavado ou escovado brônquio-alveolar ou biópsia; histopatologia evidenciando pneumonia.

Meningite*:* deverá apresentar pelo menos **um** dos seguintes critérios:
critério 1: microorganismo isolado do liquor **e** instituição de terapia antimicrobiana específica pelo médico. No caso de germes contaminantes comuns de pele, valorizar a evolução clínica do paciente;
critério 2: pelo menos **um** dos seguintes sinais ou sintomas sem outra causa reconhecida: febre (temperatura axilar > 37.5° C), hipotermia (temperatura axilar < 36° C), apnéia, bradicardia, rigidez de nuca, sinais meníngeos, sinais de envolvimento de pares cranianos, irritabilidade, convulsão **e** instituição de terapia antimicrobiana para meningite pelo médico **e** pelo menos **um** dos seguintes: exame do liquor alterado com aumento de leucócitos, proteína elevada e/ou diminuição da glicose; bacterioscopia positiva no liquor; teste de antígeno positivo no liquor, sangue ou urina.

8.6. Anexo 6 - Ficha de Coleta de Dados

1-IDENTIFICAÇÃO

1.1- Número do prontuário HC: _____
1.2- IDADE: __ (anos completos)

1.3- NÍVEL DE ESCOLARIDADE: __
0-ignorado 1-nenhum 2-fundamental incompleto 3-fundamental completo
4-médio incompleto 5-médio completo 6-superior incompleto
7-superior incompleto

1.4- COR: __
1-branca 2-negra 3-parda 4-amarela 5-outra

1.5- IDADE GESTACIONAL: __ (semanas completas)

2-DADOS DA COLETA DE CULTURAS

2.1- Cultura anorretal: __
2.2- Cultura vaginal: __
2.3- Cultura Neonatal: __

*Codificação para campos 2.1, 2.2 e 2.3:
0- *negativa*
1- positiva para *Streptococcus agalactiae*

3- DADOS OBSTÉTRICOS:

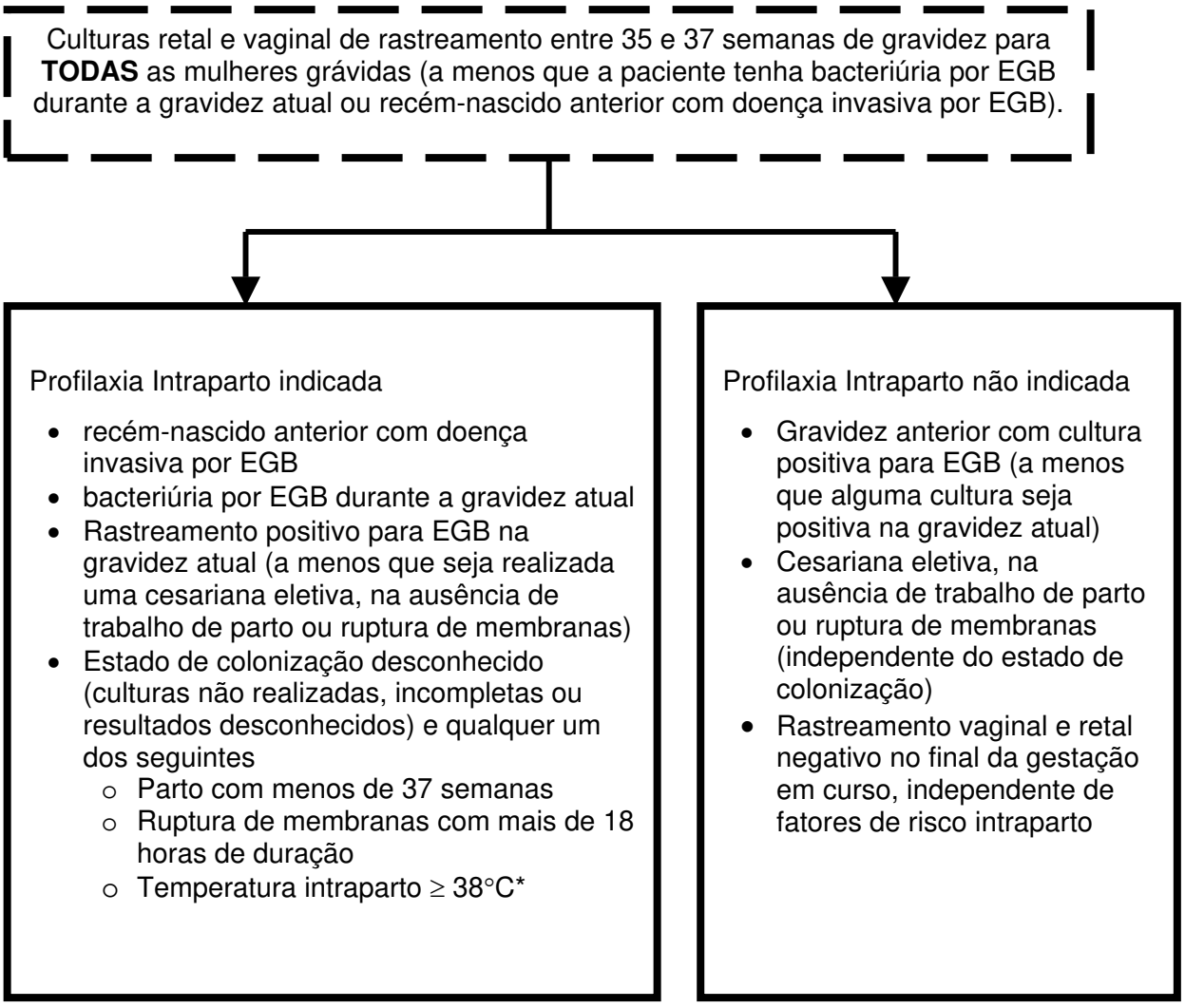
3.1- Infecção urinária por *Streptococcus agalactiae*: __ 0-não 1- *Streptococcus agalactiae* 2- *Escherichia coli* 3- *Enterococcus faecalis* 4- *Staphylococcus aureus.*
6- Outros gram negativos: Proteus, Klebsiella.
7- Outros gram positivos: Staphylococcus sp.; Streptococcus não-B 8-outros
3.2- Diagnóstico de entrada: __
1- Trabalho de parto prematuro
2- Ruptura prematura pré-termo de membranas
3- 1 e 2
3.3- Tempo de ruptura prematura de membranas até o parto: __ 1- ≤ 18 horas
2- > 18 horas
3.4- Febre intraparto (temperatura axilar ≥ 37.8° C): __ 0-não1-sim
3.5- Antibiótico intraparto: __
0- nenhum 1- Penicilina 2-Ampicilina 3-Clindamicina 4-Eritromicina
5-Cefazolina 6-Gentamicina 7- Metronidazol 8-2 e 6 9- 2,6 e 7
3.5.1- Intervalo (horas completas) entre início de antibiótico e parto: __
3.5.2- Via de Parto: ___ 1-vaginal 2-cesariana

4- DADOS NEONATAIS:

4.1- Peso: ____ gramas
4.2- índice de Capurro ou Ballard: __ semanas
4.3- índice de Apgar de 5^{o}. Minuto: __
4.4- Internação em UTI Neonatal: __ 0-não 1-sim
4.5- Sepse: __0-não 1-sim
Se 1- hemocultura: __ (seguir codificação de itens 2.1, 2.2 e 2.3)
4.6- Pneumonia: __0-não 1-sim
4.7- Meningite: __0-não 1-sim
4.8- Óbito neonatal: __0-não 1-sim
4.8.1- Se 1: causa: _____

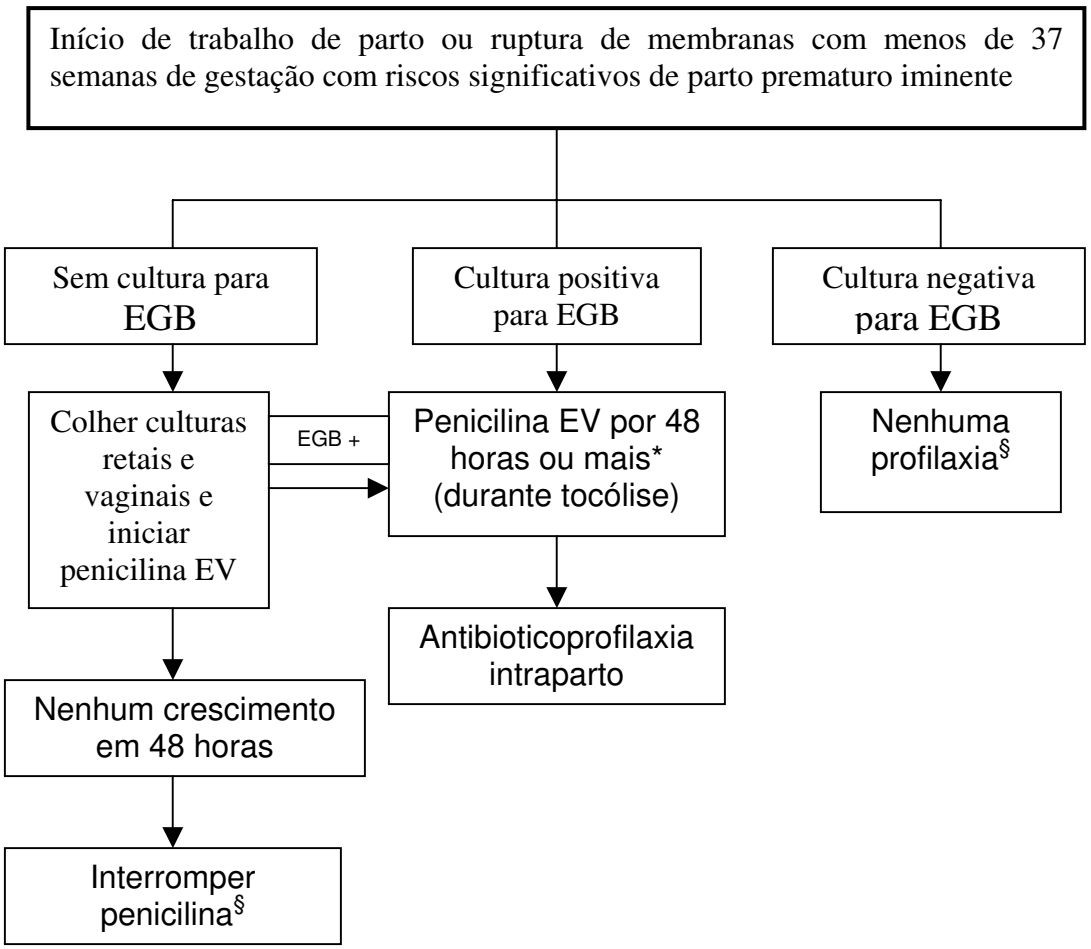
8.7. Anexo 7 – Proposta de Conduta (SCHRAG et al., 2002)

FIGURA 1 – Indicações de profilaxia antibiótica intraparto para prevenção de doença perinatal por EGB sob estratégia de rastreamento universal baseada em culturas combinadas vaginal e retal colhidas entre 35 e 37 semanas de todas as mulheres grávidas



* Se há suspeita de amnionite, antibióticos de amplo espectro que incluam um agente sabidamente ativo contra EGB devem substituir a profilaxia para EGB.

FIGURA 2 – Amostra de algoritmo para profilaxia de EGB para mulheres com risco de parto prematuro. Este algoritmo não é uma rotina exclusiva de conduta. Variações que incorporem circunstâncias individuais ou preferências institucionais podem ser apropriadas. (SCHRAG et al., 2002)



*A penicilina deve ser mantida por pelo menos 48 horas, a menos que o parto ocorra antes. A critério do médico, a profilaxia antibiótica pode continuar além de 48 horas em mulheres com culturas positivas para EGB se o parto ainda não ocorreu. Para mulheres com cultura positiva, a profilaxia deve ser reinstituída quando o trabalho de parto com possibilidade de evoluir recorrer ou ocorrer.

§ Se o parto não ocorreu nas quatro semanas seguintes, devem ser repetida as culturas retal e vaginal e a paciente deve ser conduzida da maneira descrita, baseado no resultado das novas culturas.

8.8. Anexo 8 - Parecer do Comitê de Ética

UNICAMP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas, SP
(0__19) 3788-8936
fax (0__19) 3788-8925
cep.fcm.unicamp.br

CEP, 17/12/02
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 517/2002

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: **"INFECÇÃO PERINATAL POR ESTREPTOCOCO DO GRUPO B: ESTUDO DE PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO MATERNA E NEONATAL"**
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Marcelo Luis Nomura
INSTITUIÇÃO: CAISM/FCM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/11/2002

II - OBJETIVOS

Avaliar a prevalência de colonização vaginal e retal por estreptococo do grupo B em gestantes durante o trabalho de parto prematuro com e sem ruptura prematura de membranas e avaliar a prevalência de colonização neonatal.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo de corte transversal sobre prevalência de colonização materna intraparto, durante o periodo de um ano, onde serão estudadas gestantes atendidas em trabalho de parto prematuro, aproximadamente 450. Critérios de inclusão exclusão descritos nas páginas 15 e16. Os dados obtidos através das análises do material processado serão submetidos a tratamento estatístico. Bibliografia adequada. Metodologia condizente com os objetivos propostos.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Projeto descrito adequadamente, aparentemente sem qulaquer contra indicação em relação as Resoluções 196/96 e 251/97. Termo de Consentimento descrito corretamente linguajar acessível e preciso, indicando todos os passos da pesquisa proposta.

Recomendamos a aprovação do projeto.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

Atenção: Projetos de Grupo I serão encaminhados à CONEP e só poderão ser iniciados após Parecer aprovatório desta.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na XII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 17 de dezembro de 2002.

Prof. Dr. Sebastião Araújo
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP