

VALÉRIA MORAES NEDER ALVES



Prevalência e fatores associados à colonização retal e vaginal pelo Estreptococo do Grupo B em parturientes e suas características fenotípicas

Dissertação de Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO SIMÕES

**UNICAMP
2005**

VALÉRIA MORAES NEDER ALVES



Prevalência e fatores associados à colonização retal e vaginal pelo Estreptococo do Grupo B em parturientes e suas características fenotípicas

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Tocoginecologia, área de Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO SIMÕES

**UNICAMP
2005**

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

Al 87p

Alves, Valéria Moraes Neder

Prevalência e fatores associados à colonização retal e vaginal pelo Estreptococo do Grupo B em parturientes e suas características fenotípicas / Valéria Moraes Neder Alves. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador: José Antonio Simões

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Estreptococo. 2. Infecções neonatais. 3. Infecções estreptococicas. 4. Resistência à drogas. 5. Antibióticoprofilaxia. 6. Sorotipagem. 7. Streptococcus agalactiae. I. Simões, José Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

(slp/fcm)

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: VALÉRIA MORAES NEDER ALVES

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO SIMÕES

Membros:

1.

2.

3.

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

Data: 13/04/2005

*“Nenhuma obra se faz sozinho.
Quando se pensa estar solitário,
Deus se faz presente na inspiração.”*

Gasparetto

Dedico este trabalho...

*Especialmente a Deus,
que me concedeu a essência, capacidade de trabalho e
determinação para que eu pudesse ser útil à humanidade.*

*Ao meu amado marido, Sandro,
que sentiu comigo cada passo deste caminho e
compreendeu aqueles momentos em que estive fisicamente longe.*

*À luz da minha vida, meu filho Victor,
que ainda intra-útero compartilhou todas as etapas deste trabalho e que,
com movimentos e agora com sorrisos, só me deu força e alegria.*

*Aos meus pais,
que me deram a vida, amor, incentivo, ensinamentos valiosos e
que diariamente me dão exemplo de coragem e fé.*

*Às minhas queridas irmãs, Viviana e Vanessa,
que sempre me ouviram e me apoiaram.
Amo vocês.*

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. José Antonio Simões, que me orientou com muita atenção, dedicação, competência e sabedoria, incentivando-me neste fabuloso caminho da pesquisa.

À querida Prof.^a Dr.^a Lenir Mathias, que desde meu início na residência médica me despertou admiração, respeito e exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. Nelson Lourenço Maia e Prof.^a Dr.^a Edna Cappi Maia, que sem saberem são considerados os “pais” dos residentes, por serem tão carinhosos, amigos, sem deixarem de ser extremamente competentes e firmes.

Ao meu querido professor e amigo Prof. Dr. Rodrigo P. Camargo, que me mostrou com harmonia e clareza que é possível ser um profissional competente com humildade. Obrigada pelo auxílio e muitas vezes pelo ombro amigo.

À Prof.^a Dr.^a Helaine Milanez, que por muitas vezes, como um anjo, me ajudou, e alguns marcos deixou na minha vida. Por suas sábias mãos nasceu minha afilhada Malú. Obrigada pela enorme segurança que me transmitiu e por ter colocado no mundo a pessoa mais importante da minha vida, meu filho Victor. Não posso deixar de agradecer também os cuidados que teve com minha mãezinha.

Ao Prof. Dr. José Roberto E. Gabiatti e Prof.^a Dr.^a Arlete M. dos S. Fernandes por terem aceitado participar da banca examinadora contribuindo com valiosas sugestões.

Às amigas microbiologistas, Elaine Brolazo e Priscila Portugal que muito se empenharam na identificação laboratorial dos estreptococos. Este trabalho é nosso!

Ao grande profissional Prof. Sergio Eduardo Longo Fracalanza, que nos auxiliou e elaborou os anti-soros. Sem sua valiosa participação este trabalho não se completaria. Obrigada, pois além de toda competência profissional, demonstrou-se um bom amigo.

À Gislaine Carvasan, que com paciência e rapidez realizou a parte estatística deste trabalho.

À secretária Patrícia Toledo Lima que colaborou em muitas etapas deste trabalho, por vezes digitando textos e organizando meus compromissos.

A todos os médicos plantonistas, residentes e acadêmicos, que com responsabilidade e dedicação ajudaram na coleta dos dados.

À minha amiga Dr.^a Francine Lucente, que muito se empenhou, mostrando ser uma excelente profissional. Você tem sucesso. Obrigada por seu carinho e devotada dedicação.

A todos os funcionários do Hospital Escola de Jundiaí, que auxiliaram no processo deste trabalho.

Este estudo foi desenvolvido com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Projeto número:13223-3

Sumário

| | |
|---|------------|
| Símbolos, Siglas e Abreviaturas | x |
| Lista de Figuras, Quadros e Tabelas..... | xi |
| Resumo | xii |
| Summary | xiv |
| 1. Introdução..... | 16 |
| 2. Objetivos | 29 |
| 2.1. Objetivo geral | 29 |
| 2.2. Objetivos específicos | 29 |
| 3. Sujeitos e Métodos | 31 |
| 3.1. Tipo de estudo..... | 31 |
| 3.2. Tamanho amostral | 31 |
| 3.3. Variáveis..... | 32 |
| 3.3.1. Variáveis independentes em relação à colonização..... | 32 |
| 3.3.2. Variável dependente em relação aos fatores associados, e independente em relação às características fenotípicas..... | 34 |
| 3.3.3. Variáveis dependentes em relação à colonização | 34 |
| 3.4. Seleção dos sujeitos | 35 |
| 3.4.1. Critérios de inclusão..... | 35 |
| 3.4.2. Critério de exclusão | 35 |
| 3.4.3. Critérios para descontinuação | 36 |
| 3.5. Técnicas, testes e/ou exames..... | 36 |
| 3.5.1. Coleta dos dados e cultura do EGB..... | 36 |
| 3.5.2. Susceptibilidade antimicrobiana | 39 |
| 3.5.3. Tipagem sorológica..... | 40 |
| 3.6. Processamento e análise de dados | 44 |
| 3.6.1. Processamento de dados | 44 |
| 3.6.2. Análise dos dados..... | 44 |
| 3.7. Aspectos éticos | 45 |
| 4. Resultados..... | 47 |
| 5. Discussão | 57 |
| 6. Conclusões..... | 69 |
| 7. Referências Bibliográficas | 70 |
| 8. Bibliografia de Normatizações | 82 |
| 9. Anexos | 83 |
| 9.1. Anexo 1 – Ficha para coleta de dados..... | 83 |
| 9.2. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 85 |
| 9.3. Anexo 3 – <i>Cultura, CAMP e Latex</i> | 86 |
| 9.4. Anexo 4 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa | 88 |

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

| | |
|----------------|---|
| AgHBs | Antígenos da hepatite B |
| CAISM | Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher |
| CAMP | Técnica para confirmação laboratorial do EGB (sigla corresponde às iniciais dos nomes dos autores: CHRISTIE, ATKINS, MUNCH-PETERSON). |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| CDC | <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> |
| EGB | Estreptococo do Grupo B |
| EUA | Estados Unidos da América |
| IC | Intervalo de Confiança |
| IgG | Imunoglobulina G |
| IgM | Imunoglobulina M |
| ITU | Infecção do trato urinário |
| NCCLS | <i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i> |
| NT | Não tipadas |
| p | Significância Estatística |
| RN | Recém-Nascido |
| RP | Razão de Prevalência |
| RPM | Rotura prematura das membranas |
| TPP | Trabalho de Parto Prematuro |
| Unicamp | Universidade Estadual de Campinas |

Lista de Figuras, Quadros e Tabelas

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1 Swab e tubo com meio de cultura de Todd-Hewitt..... | 38 |
| Figura 2 Swab inoculado no meio de cultura de Todd-Hewitt | 38 |
| Figura 3 Aglutinação – Teste de confirmação da presença do EGB..... | 39 |
| Figura 4 CAMP – Teste para confirmação da presença do EGB..... | 39 |
| Figura 5 Antibiograma..... | 40 |
| | |
| Quadro 1 Susceptibilidade antimicrobiana de cada cepa a diversos antibióticos..... | 53 |
| | |
| Tabela 1 Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B de acordo com o sítio de coleta da amostra..... | 48 |
| Tabela 2 Características sócio-demográficas das parturientes de acordo com a de colonização pelo EGB..... | 49 |
| Tabela 3 Características das parturientes segundo história obstétrica de acordo com status de colonização..... | 50 |
| Tabela 4 Correlação entre a presença de fatores de risco e a colonização materna pelo EGB..... | 51 |
| Tabela 5 Distribuição das cepas isoladas segundo a susceptibilidade aos diversos antimicrobianos..... | 52 |
| Tabela 6 Distribuição dos sorotipos dos EGB isolados das parturientes (n=46)..... | 54 |
| Tabela 7 Resistência antimicrobiana dos EGB segundo o sorotipo..... | 55 |
| Tabela 8 Distribuição da sorotipagem do EGB de acordo com a susceptibilidade antimicrobiana | 56 |

Resumo

INTRODUÇÃO: A colonização pelo estreptococo do Grupo B (EGB) é, em nível mundial, altamente prevalente entre as gestantes, variando de 4% a 30%. Estes microorganismos podem ser transmitidos verticalmente e causar sérias conseqüências neonatais. No Brasil ainda não foram adotadas estratégias de prevenção e tratamento para reduzir a incidência de infecção neonatal pelo EGB, as quais, para serem efetivas, devem ser elaboradas com base em conhecimentos sobre a prevalência, aos fatores associados ao maior risco de colonização e às características fenotípicas do estreptococo do Grupo B.

OBJETIVO: estabelecer a prevalência da colonização pelo EGB no trato genital de parturientes, identificar os fatores associados à essa colonização e as características fenotípicas destes estreptococos. **MÉTODO:** foi realizado um estudo de corte transversal, no período de 11 de novembro de 2003 a 14 de maio de 2004. No momento da admissão para o parto, uma amostra de 316 parturientes do Hospital Universitário de Jundiaí foi submetida à coleta, com *swab* estéril, de material das regiões retal e vaginal, para detecção do EGB, por cultura seletiva no meio de Todd-Hewitt. Dados referentes aos fatores associados à colonização foram obtidos dos prontuários rotineiramente preenchidos, ou

perguntados às parturientes e transcritos para a ficha de dados. A susceptibilidade a sete antimicrobianos (penicilina, ampicilina, eritromicina, nitrofurantoina, clindamicina, cefalotina e gentamicina) foi obtida através da técnica de disco difusão dos antibióticos. As amostras foram diferenciadas pela tipagem sorológica e anti-soros específicos para os tipos sorológicos Ia, Ib, II, III, IV, V).

RESULTADOS: A prevalência da colonização pelo EGB na amostra estudada foi de 14,6%. Trabalhar fora de casa foi um fator significativamente associado à colonização. Nenhuma cepa foi resistente à penicilina, ampicilina, eritromicina e nitrofurantoína. A maior resistência foi para a gentamicina (76,1%), seguida pela clindamicina (17,4%). O sorotipo mais freqüente foi o Ib (23,9%), seguido pelos sorotipos II e Ia (19,6% e 17,4%, respectivamente). Não houve correlação entre o sorotipo e a maior resistência antimicrobiana. **CONCLUSÃO:** a prevalência da colonização pelo EGB em parturientes do Hospital Universitário de Jundiaí foi alta. Não houve fatores associados à colonização, exceto ao que se refere ao fato de trabalhar fora de casa. A penicilina continua sendo a droga de escolha para a profilaxia intraparto, porém a clindamicina como alternativa em mulheres alérgicas à penicilina deverá ser melhor avaliada por antibiograma ou substituída pela cefalotina. O sorotipo mais freqüente (Ib) diferiu da maioria dos estudos em outros países, demonstrando a necessidade da identificação da sorotipagem em cada região, a fim de uma futura elaboração de vacinas específicas para as gestantes brasileiras.

Summary

Introduction: Genital colonization with Group B Streptococcus(GBS) occurs in 4% to 30% of pregnant women. GBS can be vertically transmitted and cause significant morbidity and mortality in newborns. Strategies for prevention and treatment to reduce the incidence of the newborn infection have not been established yet in Brazil. In order to be effective, these strategies must be made based on the knowledge on prevalence, risk factors for GBS colonization and on GBS phenotypic characteristics. **Objectives:** To establish the prevalence of GBS genital colonization, to identify the factors associated with this colonization and the GBS phenotypic characteristics (antibiotic susceptibility and serotypes). **Methodology:** The study was carried out from November 11, 2003 to May 14, 2004. A total of 316 pregnant women of the University Hospital of Jundiaí was sampled for GBS cultures at the admission for delivery. Samples were collected using sterile swab from the vagina and rectum, which were immediately inoculated onto Todd Hewitt's selective medium. Data regarding to the factors associated with the colonization were obtained from patient's clinical record files. GBS antibiotic susceptibilities were determined using disk diffusion to seven

antibiotics (penicillin, ampicillin, erythromycin, clindamycin, cefalotin, gentamycin and nitrofurantoin) according to the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Serotypes were determined using specific anti-serum Ia, Ib, II, III, IV and V. **Results:** GBS colonization rate was 14.6%. The only factor significantly associated with GBS colonization was to have a job out of home. None isolate was resistant to penicillin, ampicillin, erythromycin or nitrofurantoin. The highest resistance rate was to gentamycin (76.1%), followed by clindamycin (17.4%). The most frequent serotype was Ib (23.9%) followed by serotypes II and Ia (19.6% and 17.4%, respectively). No correlations were found between serotype and antibiotic resistance. **Conclusion:** GBS colonization rate was high in pregnant women attending the University Hospital of Jundiaí for delivery. No risk factors were associated with the colonization except to have a job out of home. Penicillin continues to be the drug of choice for intrapartum antibiotic prophylaxis. However, clindamycin as an alternative in women allergic to penicillin should be better evaluated using antibiotic sensitivity tests. The most frequent serotype found in this study (Ib) was not the same found in most of studies from another countries. This result highlights the importance of the knowledge of the most prevalent serotypes in each region to further development of an appropriate vaccine for GBS.

1. Introdução

Há pouco mais de três décadas, o *estreptococo do grupo B (EGB)* era conhecido como causador de mastite bovina, condição que reflete o termo *Streptococcus agalactiae*, que lhe foi conferido. Em 1970, emergiu como o principal patógeno humano, causando doença bacteriana associada à morbimortalidade neonatal nos EUA, bem como em adultos (CDC, 1996; MMWR, 2000). Dentre as infecções neonatais causadas pelo EGB citam-se bacteremia, pneumonia, meningite, celulite, osteomielite e sepse, que ocorrem principalmente em prematuros (CDC, 1996; Edwards e Baker, 2000; MMWR, 2000).

O estreptococo β -hemolítico do grupo B ou *Streptococcus agalactiae* é um diplococo gram-positivo (CDC, 1996; EDWARDS e BAKER, 2000), causador de colonização e infecção em gestantes, neonatos e adultos imunodeprimidos (Zangwill et al., 1992; CDC, 1996). Sua gravidade pode surgir ainda intra-útero, já que existem relatos de aborto e de óbito fetal (Spellerberg, 2000; Blackwell et al., 2003).

No período neonatal, em 80% dos casos, pode causar infecção precoce (até seis dias de idade) ou, menos freqüentemente infecção tardia (sete dias de idade ou mais) (Zangwill et al., 1992; CDC, 1996; Edwards e Baker, 2000).

Além disso, para o lado materno, 19% das gestantes colonizadas pelo EGB têm um aumento significativo de ruptura das membranas, febre pós-parto e endometrite puerperal, quando comparadas com gestantes não-colonizadas (Edwards e Baker, 2000), além de infecção do trato urinário, tanto em gestantes como em mulheres não grávidas (Edwards e Baker, 1995).

Mundialmente, a colonização pelo EGB é altamente prevalente entre as gestantes, variando de 4% a 30 % (Dillon et al., 1982; Baker e Edwards, 1990; Hickman et al., 1999; Moyo et al., 2000).

No Brasil, entretanto, foram identificadas poucas publicações que fazem referência à problemática do EGB em gestantes nos últimos anos. Alguns autores brasileiros encontraram taxa de isolamento do EGB de 4% a 25% entre as parturientes (Rocha et al., 1984; Smânia Jr et al., 1986; Mocelin et al., 1995; Calil, 2001; Miura e Martin, 2001; Vaciloto et al., 2002; Beraldo et al., 2004). Um recente estudo realizado no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) demonstrou uma prevalência de 27,6% de colonização materna em situações de trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas, sendo que as taxas de colonização por diagnóstico foram de 34,7% para RPM, 25,2% para TPP e 17,8% para RPM e TPP (Nomura, 2004).

Neonatos colonizados resultam da transmissão vertical, seja por via ascendente, através das membranas íntegras ou rotas ou, no momento do parto, por contato do EGB com tecidos fetais ou ainda por aspiração de secreções vaginais pelo feto (Moyo et al., 1996; Edwards e Baker, 2000; Doran e Nizet, 2004). A taxa de transmissão vertical em recém-nascidos de mulheres colonizadas pelo EGB, no momento do parto, é de aproximadamente 50%, independentemente da via de parto (Baker e Barrett, 1973).

Os recém-nascidos (RN) de gestantes colonizadas pelo EGB apresentam um risco 29 vezes maior de infecção precoce do que os RN de gestantes cuja cultura foi negativa (Boyer e Gotoff, 1985; CDC, 1996). De todos os RN de parturientes colonizadas, 1% a 2% irão desenvolver infecção precoce (Baker e Edwards, 1995), apresentando, na maioria dos casos, sintomas precoces de seis a oito horas após o nascimento. Na Maternidade Santa Joana, em São Paulo, 0,39 por 1.000 nascidos vivos desenvolveram infecção precoce (Vaciloto et al., 2002). No CAISM/Unicamp a incidência de sepse precoce pelo EGB foi de 1,47 por 1.000 nascidos vivos (Calil, 2001).

Neonatos infectados podem requerer hospitalização prolongada e onerosa terapia de suporte (CDC, 1996), com custo neonatal direto de 300 milhões de dólares ao ano, nos EUA (Moehe-Boetani et al., 1993). Destes, a taxa estimada de casos fatais é de 5% a 20% (Zangwill et al., 1992; Baker e Edwards, 1995), sendo inversamente proporcional ao peso do nascimento (Edwards e Baker, 2000). No Brasil, a taxa de mortalidade varia de 20% a 60% (Calil, 2001; Miura e Martin, 2001; Vaciloto et al., 2002;), e 15% a 30% dos sobreviventes de

meningite podem apresentar seqüelas neurológicas graves, resultando em alto risco social e econômico (CDC, 1996; Embleton, 2001).

A prevalência da colonização pelo EGB é mais comum que a de outras doenças já rastreadas rotineiramente no pré-natal. Dados nacionais fazem referência de taxas de positividade de 1,6% para sífilis, 1,8% (IgM) para toxoplasmose, 1,2% (IgM) para rubéola, 0,8% para hepatite B (AgHBs), 0,8% para hepatite C e 0,6% para infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (Reiche et al., 2000) e, apesar da prevalência da colonização materna pelo EGB ser relevante também no Brasil, ainda permanece pouco conhecida pela maioria dos obstetras (Vaciloto et al., 2002; Beraldo et al., 2004).

É importante que a coleta para a pesquisa da colonização pelo EGB seja realizada nas regiões retal e vaginal, uma vez que o trato gastrointestinal baixo é o principal reservatório dos EGB (Schuchat e Wenger, 1994; Edwards e Baker, 2000) e o trato geniturinário o sítio secundário (CDC, 1996). Quanto ao sítio de coleta, a porcentagem encontrada pode ser maior em amostras anorretais (Quinlan et al., 2000), vaginais (Moyo et al., 2000; Smânia Jr et al., 1986) ou ser similares (Nomura, 2004), mas de qualquer forma a taxa de detecção do EGB é cerca de 20% a 40% maior quando associa a cultura vaginal com a cultura anal (Yancey et al., 1996, Quinlan et al., 2000; Schrag et al., 2002; Nomura, 2004). Baixas taxas de prevalência podem estar correlacionadas com a coleta de um único sítio (Toresani et al., 2001).

Para a otimização do diagnóstico é essencial o meio de cultura seletivo de Todd-Hewitt, contendo antibióticos que impedem o crescimento de outros patógenos, (Stoll e Schuchat, 1998; Yancey et al., 1996; CDC, 2002). Este meio é cerca de 30% superior ao meio não seletivo na detecção do EGB, demonstrando a importância deste tipo de cultura (Nomura, 2004).

Taxas de colonização também podem variar bastante segundo o grupo étnico, local geográfico, fatores imunológicos e idade da população investigada (Zangwill et al., 1992; Baker e Edwards, 1995; Torres et al., 2000).

Nesse sentido existe um aumento nas incidências da colonização e da infecção neonatal entre os nascidos de mulheres com idade inferior a 20 anos, com baixa paridade e de raça negra (Schuchat et al., 1990; Zangwill et al., 1992; Katz, 1993; Hickman et al., 1999; Campbell et al., 2000; Zaleznik et al., 2000; Vaciloto et al., 2002), assim como de mulheres com baixos níveis de anticorpo capsular anti-EGB (Baker e Kasper, 1976). Outros fatores que aumentam a incidência de infecção precoce entre os RN de gestantes colonizadas incluem maior frequência de prática sexual (Toresani et al., 2001), bacteriúria pelo EGB, ruptura das membranas ou parto prematuro, febre intraparto ou amniotite e ruptura das membranas por mais de 18 horas antes do parto (Schuchat et al. 1994).

Alguns estudos apresentaram diferença quanto à paridade e idade, mostrando maior colonização em mulheres de 35 anos e em multíparas, tendo como provável explicação o nível socioeconômico desfavorável (Torres et al., 2000). Outros apontaram uma colonização maior entre os grupos de ocupação

rural (Moyo et al., 2000; Torres et al., 2000). Todavia, em aproximadamente 1/3 das parturientes cujos RNs foram infectados, nenhum dos fatores de risco associados pôde ser identificado (Vaciloto et al., 2002).

Uma pesquisa demonstrou que os parceiros de gestantes colonizadas tinham uma taxa de colonização maior que os parceiros do grupo-controle, apoiando a idéia da infecção pelo EGB ser uma doença sexualmente transmissível (DST) (Baker e Barrett, 1973). Mulheres com gonorréia e seus parceiros sexuais tiveram um aumento significativo nas taxas de colonização pelo EGB, em relação ao grupo controle (Bayer et al., 1976).

No intuito de reduzir a morbimortalidade neonatal pelo EGB, diferentes países têm instituído estratégias preventivas e terapêuticas no intraparto (CDC, 1996; MMWR, 2000). Outras tentativas anteriores de prevenção mostraram-se menos eficazes, pois o uso de antimicrobianos na profilaxia do neonato infectado não diminuiu as taxas de mortalidade e infecção (Schuchat, 1998).

Além disso, a antibioterapia durante a gravidez não se mostrou como uma boa estratégia, devido às recorrências serem muito freqüentes, apresentando até 60% de recolonização (CDC, 1996; 2002). Isso é explicado pelo caráter transitório, crônico e intermitente da colonização. Por ser uma condição dinâmica, a época ideal para a coleta é de cinco a sete semanas antes do parto devido à estabilidade de multiplicação da flora (Regan et al., 1996); Portanto, só a cultura próxima ao parto é capaz de predizer a infecção neonatal (Yancey et al., 1996).

Desde a implementação da quimioprofilaxia intraparto tem-se documentado, em algumas regiões geográficas, um significativo decréscimo da incidência de infecção neonatal precoce (CDC, 1996; Smaill, 2000; Share et al., 2001; Smaill, 2002).

A atual opção estratégica recomendada pelo *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), para prevenção da transmissão vertical do EGB, é a investigação rotineira da colonização pelo EGB no final do pré-natal. Esta abordagem inclui cultura de material vaginal e retal (1/3 inferior da vagina e endoanal) em meio seletivo entre 35 a 37 semanas de gravidez. Naqueles casos em que ocorre trabalho de parto antes desta idade gestacional, a antibioticoprofilaxia deve ser realizada sempre, uma vez que a cultura ainda não foi realizada, ou mantém-se indisponível (CDC, 2002).

Ainda segundo o CDC, a profilaxia antimicrobiana intraparto contra o EGB deve ser realizada em todas as gestantes colonizadas. Nos casos de parturientes em que o resultado da cultura não é disponível, a profilaxia deverá ser realizada somente nas seguintes condições: naquelas com antecedente de RN com infecção pelo EGB, bacteriúria durante a gravidez (indica alta colonização), trabalho de parto prematuro, ruptura prematura das membranas (RPM) com duração maior ou igual a 18 horas ou febre intraparto (CDC, 1996; 2002). A quimioprofilaxia não está indicada se cultura negativa confiável em meio seletivo até cinco semanas antes do parto, apesar da presença de fatores de risco, e tampouco em casos de cesárea eletiva com bolsa íntegra fora de trabalho de parto (CDC, 2002). Porém, há controvérsia quanto à indicação de antibioticoprofilaxia em cesárea eletiva devido a ter-se encontrado redução de

endometrite e outras infecções sob o uso de antibioticoprofilaxia em cesárea eletiva ou não (Smaill e Hofmeyr, 2005).

Infelizmente muitas mulheres são admitidas em trabalho de parto sem um resultado recente e confiável da cultura do EGB. Por isso, têm-se procurado otimizar testes de detecção rápida do EGB para a realização no momento da admissão da parturiente, a fim de pesquisar se a mesma está colonizada pelo EGB (Bergeron et al., 2000). O uso de um teste rápido em parturientes colonizadas pode ser um programa preventivo simples, de menor custo e mais eficiente, devido à obtenção antecipada do resultado e por englobar gestantes não-rastreadas no pré-natal (CDC, 1996; Votava et al., 2001). O resultado do teste rápido é similar ao do meio de cultura seletivo padrão (Rosa et al., 1999; 2000), com sensibilidade de 98% a 99% (Claeys et al., 2001).

Para a profilaxia intraparto recomenda-se o uso da penicilina, tendo como alternativa a ampicilina (CDC, 2002). Porém, alguma reação contra a penicilina ou a outro beta-lactâmico foi encontrada em 5% a 20 % das pacientes (Weiss e Adkinson 2000), correspondendo a um óbito para cada 1.000 aplicações (Mandell e Sande, 1991). Assim, tem sido recomendado, alternativamente, a clindamicina ou a eritromicina como drogas de escolha em gestantes alérgicas e/ou com história de alergia às penicilinas (CDC 1996; Rouse et al. 1998; CDC, 2002).

A eficácia da profilaxia antimicrobiana intraparto na redução da transmissão vertical pelo EGB é evidenciada na maioria dos estudos (CDC, 1996; Smaill, 2000; Share et al., 2001). Pesquisas estimam que esta estratégia profilática

poderia prevenir pelo menos 50% das infecções precoces (Boyer e Gotoff, 1986; Schrag et al, 2000), com um decréscimo na incidência de infecção de 2,7 para 0,4 por 1.000 nascidos vivos (Share et al., 2001), trazendo benefícios em termos de saúde pública e menores custos, quando comparados aos custos com o tratamento de neonatos infectados (Moehe-Boetani et al., 1993), embora não haja diferença significativa na taxa de mortalidade neonatal (Smaill, 2000).

Paralelamente ao uso de antibióticos em larga escala, surge grande preocupação frente ao aumento da incidência de sepse neonatal por bactérias gram-negativas resistentes à ampicilina (Levine et al., 1999; Monif, 2000). Este fato não foi observado em outros estudos (Main e Slagle, 2000; Chen et al., 2001).

Como principais características fenotípicas do EGB citam-se a susceptibilidade antimicrobiana e a classificação sorológica, ou seja, a sua sorotipagem (Toresani et al., 2001).

No que se refere à susceptibilidade antimicrobiana, estudos demonstraram, na maioria das vezes, nenhuma resistência dos EGB às penicilinas até o presente (Fracalanza e Benchetrit, 1986; Lin et al., 2000). Por outro lado, resistência aos outros antibióticos tem sido freqüentemente descrita. Vários estudos têm demonstrado taxas de resistência para a clindamicina e eritromicina em EGB isolados de cultura genital de gestantes (Pearlman et al., 1998; Silverman et al., 2000), principalmente entre as cepas com sorotipo V (Lin et al., 2000). Isso sugere uma possível deficiência nas diretrizes do CDC para a prevenção da infecção neonatal em mulheres com história de alergia à

penicilina (Pearlman et al., 1998; Silverman et al., 2000). Para tanto, as cefalosporinas poderiam ser outra alternativa para as gestantes alérgicas, particularmente aquelas com antecedente de anafilaxia (Liu et al., 1997; Silverman et al., 2000; FIORE Mitchell et al., 2001). Um estudo nacional também encontrou uniforme sensibilidade dos EGB à penicilina, ampicilina, cefalotina, lincomicina e cefoxitina, e resistência aos aminoglicosídeos gentamicina e tobramicina (Fracalanza e Benchetrit, 1986). Outro trabalho mais recente demonstrou taxas relativamente altas de cepas do EGB com susceptibilidade intermediária para as penicilinas, apontando para uma possível evolução para resistência (Simões et al., 2004). O achado de resistência do EGB à clindamicina, eritromicina e outros antibióticos indica a necessidade de se continuar investigando a susceptibilidade deste patógeno a diversos antimicrobianos (Betriu et al., 1994; Simões et al., 2004).

A esse respeito deve-se salientar que a resistência a um antimicrobiano aumenta no decorrer dos anos, difere entre os sorotipos e varia de acordo com a localização geográfica, o que faz concluir que a escolha do melhor antimicrobiano deveria ser guiada pelo padrão de resistência antibiótica observada em cada região geográfica (Lin et al., 2000).

Além da quimioprofilaxia, a imunoprofilaxia também tem sido sugerida para a prevenção da infecção pelo EGB (Edwards e Baker, 2000). A identificação do EGB baseia-se na cultura e na detecção do antígeno do grupo B específico na parede celular, comum a todas as cepas (Edwards e Baker, 2000). Existem 11 sorotipos, descritos de acordo com o antígeno polissacaríde

capsular, designados de Ia, Ib, Ia/c, II, II/lc, III até VIII, dos quais os mais freqüentes em humanos são os sorotipos I e III (Dillon et al., 1982; Schuchat, 1998; Zaleznik et al., 2000). O tipo V também tem surgido como causador de infecção invasiva (Dillon et al., 1982). Sorotipos servem de base na elaboração de vacinas (Smânia Jr et al., 1986; Davies et al., 2001b).

Na dependência da conformação desta cápsula do EGB pode ocorrer dificuldade no reconhecimento do EGB pelo hospedeiro devido a um mimetismo imunológico, impedindo a fagocitose do EGB pelas células de defesa do hospedeiro, conferindo maior virulência para estas cepas (Doran e Nizet, 2004).

Alguns estudos demonstraram que os sorotipos III, V e I foram os predominantes e observaram que existe uma variação na distribuição sorotípica entre as regiões geográficas (Adong et al., 1998; Berg et al., 2000; Moyo et al., 2000; Toresani et al., 2001).

Para outros autores ocorre predominância entre os sorotipos II e III (Smânia Jr et al., 1986; Blumberg et al., 1992; Adong et al., 1998). No Japão, os sorotipos mais encontrados foram o VI e VIII (Mikamo et al., 2000). Em mulheres canadenses o sorotipo III ocorreu em 20,6 %, sendo mais invasivo que outros sorotipos (Davies et al., 2001a).

Há evidências de que a susceptibilidade à infecção por determinados sorotipos do EGB seja causada pela deficiência materna do anticorpo anticapsular específico (Baker e Kasper, 1976), principalmente em adolescentes (Campbell

et al., 2000). Existe confirmação da correlação entre o tipo sorológico do binômio mãe-neonato em 100% dos casos (Christensen et al., 1981)

Várias vacinas estão sendo desenvolvidas para indução de anticorpos contra o polissacarídeo capsular do EGB (Baker e Kasper, 1976; Schuchat Wenger, 1994). Estas podem ser potencialmente usadas em adultos para prevenção desta infecção (CDC, 1996). A vacina contra o EGB é altamente imunogênica para a mulher e permite transferência transplacentária da proteção ao feto (CDC, 1996; Edwards e Baker, 2000). Entretanto, o menor transporte transplacentário do anticorpo antes de 32 a 34 semanas de gestação, assim como a dificuldade em dispor de vacinas para gestantes, limita o impacto desse efeito protetor vacinal (CDC, 2002).

Considerando-se estas limitações, a estratégia profilática disponível atualmente é a antibioterapia intraparto. No Brasil, entretanto, ainda não foram adotadas estratégias de prevenção e tratamento para reduzir a incidência de infecção neonatal pelo EGB (Mocelin et al., 1995), uma vez que o assunto não está incluído no manual técnico de gestação de alto risco do Ministério da Saúde (Silveira et al., 2000).

Para a elaboração de uma estratégia profilática local é necessário que as ações para a prevenção e o controle da infecção pelo EGB dirijam-se principalmente à população de maior risco, na área geográfica em estudo, a fim de diminuir a transmissão vertical (Torres et al., 2000; Embleton, 2001).

A escolha de um antibiótico também necessita de considerável atenção ao elaborar uma estratégia terapêutica (Embleton, 2001), pois a eficácia da estratégia de profilaxia intraparto é fortemente influenciada pela susceptibilidade do microorganismo ao agente antimicrobiano empregado (Pearlman et al., 1998; Silverman et al., 2000).

A partir do conhecimento da sorotipagem, podem-se formular vacinas (Adong et al., 1998; Davies et al., 2001b), eliminar a necessidade de *screening* no pré-natal, promover proteção para infecção tardia, além de não provocar efeitos adversos e resistência antimicrobiana (CDC, 1996; Edwards e Baker, 2000). Com o tempo, esta pode ser a estratégia preventiva ideal (Meyn e Hillier, 1997).

A falta desses conhecimentos na população estudada limita a futura elaboração de estratégias profiláticas contra o EGB, uma vez que estas, para serem efetivas, devem ser elaboradas com base nos conhecimentos sobre a prevalência, aos fatores associados ao maior risco de colonização e às características fenotípicas do EGB-alvo.

Futuras medidas, embasadas na realidade local, serão muito mais eficazes e consistentes, visto que estas podem ser bastante diferentes da realidade de outros países. A fim de contribuir com algum esclarecimento para estas questões, realizou-se o presente estudo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Estudar a prevalência da colonização vaginal e retal pelo EGB em parturientes, identificar fatores associados à essa colonização e descrever as características fenotípicas destes estreptococos (susceptibilidade antimicrobiana e sorotipagem).

2.2. Objetivos específicos

1. Estabelecer a prevalência da colonização pelo EGB no trato genital inferior de parturientes do Hospital Escola da Faculdade de Medicina de Jundiaí.
2. Identificar os possíveis fatores sociodemográficos e obstétricos associados à colonização pelo EGB.
3. Avaliar a susceptibilidade dos EGB isolados aos antimicrobianos.

4. Descrever a distribuição dos sorotipos dos EGB identificados no trato genital destas parturientes.

5. Correlacionar o sorotipo e a resistência antimicrobiana dos EGB isolados.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Trata-se de estudo tipo corte transversal

3.2. Tamanho amostral

Considerando a prevalência da colonização pelo EGB, em nível mundial, de 4% a 30% (Baker e Edwards, 1990), estimou-se, inicialmente, uma prevalência de 30% para a determinação do tamanho amostral. Este número, dentro do intervalo mencionado, é o que determinaria o maior tamanho amostral. Estipulando um coeficiente de confiança de 95% e esta estimativa *a priori* da prevalência, o tamanho amostral de 323 mulheres estaria associado a uma tolerância de $p=5$, satisfatória ao estudo. Porém, ao obtermos a amostra de 316 parturientes, com uma prevalência de colonização pelo EGB de 14,6%, observou-se estatisticamente que com este tamanho amostral, o erro amostral foi menor do que o proposto ($p= 3,89$), não necessitando incluir mais sujeitos à amostra.

3.3. Variáveis

3.3.1. Variáveis independentes em relação à colonização

– **Fatores sociodemográficos** associados à colonização pelo EGB:

- **Idade:** diferença entre a data do nascimento e a data da coleta dos dados, calculada em anos completos de vida, segundo consta no prontuário médico.
- **Cor:** tonalidade da pele, conforme consta no prontuário – negra, parda, branca, amarela.
- **Estado marital:** situação conjugal da parturiente, segundo consta no prontuário – solteira, casada, outro.
- **Escolaridade:** último grau completado na escola, segundo consta no prontuário – nenhuma, fundamental, médio, superior.
- **Ocupação profissional:** atividade laborativa remunerada realizada fora do lar, segundo consta no prontuário – presente, ausente.
- **Residência:** local de moradia da parturiente, segundo informação da parturiente – sítio (rural), cidade (urbana).
- **Tabagismo:** hábito de fumar durante a gestação, conforme consta no prontuário – presente, ausente.
- **Corrimento vaginal:** queixa de saída de secreção via vaginal durante o pré-natal, conforme referido pela parturiente – presente, ausente.
- **Número de parceiros sexuais:** quantidade de homens com que a parturiente manteve relações sexuais, nos últimos seis meses antes de engravidar, segundo informação da parturiente.

– **Fatores obstétricos** associados à colonização pelo EGB:

- **Idade gestacional:** tempo da gestação em semanas, calculado no momento da internação, através da data da última menstruação e/ou ultra-som obstétrico precoce, segundo consta no prontuário – < 37 semanas; \geq 37 semanas.
- **Trabalho de parto prematuro:** história de contrações uterinas regulares e persistentes, antes de 37 semanas de gestação, acompanhadas de modificações cervicais e que necessitaram de internação hospitalar, segundo consta no prontuário – presente, ausente.
- **Parto prematuro:** história de recém-nascido com menos de 37 semanas (259 dias) de gestação, segundo consta no prontuário – presente, ausente.
- **Amniorrexe prematura e/ou precoce:** ruptura das membranas ovulares, ocorrida a partir de 20 semanas, segundo consta no prontuário – presente, ausente.
- **Presença de patologias imunossupressoras maternas:** doenças de base que reduzem a imunidade (exemplo: diabetes, AIDS, etc.) da parturiente, segundo consta no prontuário - presente, ausente.
- **Febre:** temperatura axilar maior ou igual a 37,8 C, aferida no momento da internação, conforme consta no prontuário – presente, ausente.
- **Número de gestações:** número de vezes que a mulher esteve grávida, independente do resultado da gravidez, segundo consta no prontuário.
- **Paridade:** número de partos, segundo consta no prontuário.

- **Antecedente de bacteriúria assintomática ou infecção do trato urinário nesta gestação:** presença de colonização bacteriana na urina e leucocitúria, detectada pelo exame de urina, conforme anotação no prontuário – presente, ausente.
- **Uso de antibióticos nesta gestação:** tratamento ou profilaxia através de antimicrobianos antes do parto, segundo constam no prontuário – sim, não.
- **Antecedente de infecção neonatal pelo EGB:** história de infecção pelo EGB em recém-nascidos de gravidezes anteriores, segundo consta no prontuário - presente, ausente.
- **Antecedente de óbito neonatal:** história de morte logo após o nascimento de filhos de gestações anteriores, segundo consta no prontuário - presente, ausente.

3.3.2. Variável dependente em relação aos fatores associados, e independente em relação às características fenotípicas

- **Colonização pelo EGB:** presença do EGB, detectado através de cultura em meio seletivo de material do trato genital inferior, segundo laudo laboratorial – presente , ausente.

3.3.3. Variáveis dependentes em relação à colonização

- **Susceptibilidade do EGB aos antimicrobianos:** resposta do EGB, quando exposto *in vitro*, aos antimicrobianos testados, segundo laudo laboratorial – sensível, resistente, intermediário, ignorado.

- **Sorotipo do EGB:** caracterização antigênica do EGB pela identificação do antígeno capsular, segundo laudo laboratorial – Ia, Ib, II, III, IV, V, NT.

3.4. Seleção dos sujeitos

As parturientes admitidas no Hospital Universitário de Jundiaí no período de 11 de novembro de 2003 a 14 de maio de 2004 foram incluídas no presente estudo. Houve dificuldades na execução da coleta de dados devido à mudança de local do Hospital Escola de Jundiaí, causando necessidade de maior tempo para integração entre os profissionais e a rotina hospitalar.

3.4.1. Critérios de inclusão

- Ter sido admitida para assistência ao parto.
- Ter aceitado participar do estudo.

3.4.2. Critério de exclusão

- Ter usado antimicrobiano nas últimas duas semanas.
- Estar em trabalho de parto muito avançado, com iminência do parto, impossibilitando as coletas necessárias.

3.4.3. Critérios para descontinuação

Algumas mulheres poderiam ser retiradas do estudo se os dados das características fenotípicas de sua amostra sofressem extravio ou se ocorresse danos no material para cultura de pesquisa do EGB.

3.5. Técnicas, testes e/ou exames

3.5.1. Coleta dos dados e cultura do EGB

Durante o período de 11 de novembro de 2003 a 14 de maio de 2004, os dados foram coletados juntamente com os residentes do Hospital Escola de Jundiaí, previamente capacitados através de treinamento oferecido pelo pesquisador, o qual também supervisionou a maioria das coletas.

As informações das fontes de dados (prontuário, laudo laboratorial e respostas às perguntas) foram transferidas para o instrumento, porém sem dados que pudessem identificar a parturiente. As fichas ficaram sob o cuidado exclusivo do pesquisador até o final do processamento e análise dos dados.

Dados referentes aos fatores de risco foram colhidos dos prontuários rotineiramente preenchidos, ou perguntados às parturientes e transcritos para a ficha de dados criada para a pesquisa (Anexo 1).

No momento da realização do exame admissional e antes de qualquer antisepsia perineal, foram coletadas, com *swab* estéril, amostras de material das regiões retal e vaginal, segundo técnica descrita pelo *National Committee*

for *Clinical Laboratory Standards* – NCCLS (NCCLS, 1987). Os *swabs* obtidos foram imediatamente colocados em meio de cultura apropriado de Todd-Hewitt (contendo 1,0ml de caldo Todd-Hewitt, 8µg de sulfato de gentamicina e 15µg de ácido nalidíxico). Os tubos de Todd-Hewitt foram enviados ao Laboratório de Microbiologia do Trato Genital feminino do CAISM. (Figuras 1 e 2)

A forma de coleta foi a seguinte:

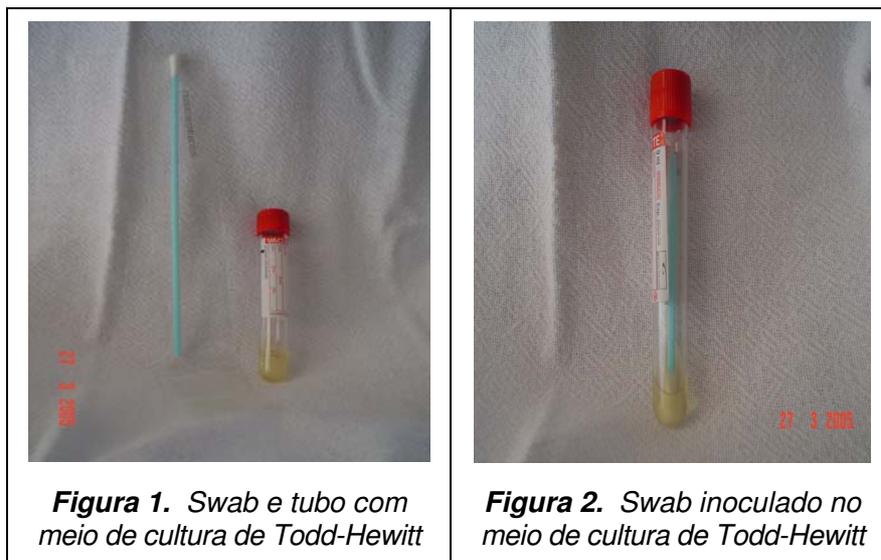
Dois (2) tubos para cada parturiente:

- 1. Meio de cultura de Todd-Hewitt para o vestíbulo vaginal.**
- 2. Meio de cultura de Todd-Hewitt para a região endoanal.**

Os tubos foram identificados com o número do caso (o mesmo número da ficha de dados); data; hora e local de coleta: vaginal (V) ou endoanal (A).

Os passos orientados para a coleta foram:

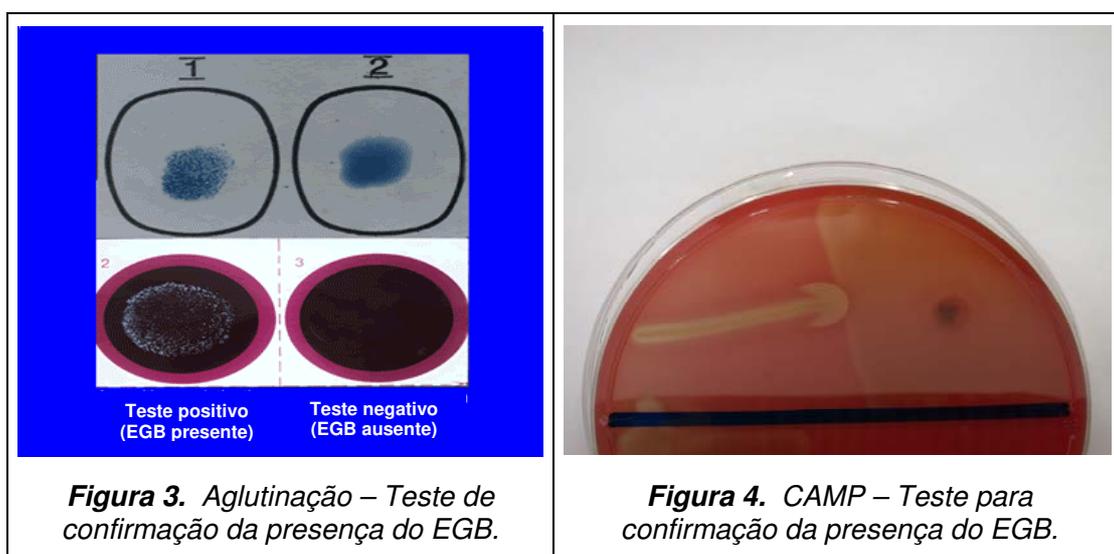
- 1.** Com luvas, passar o *swab* no vestíbulo vaginal. Abrir o tubo de Todd-Hewitt mergulhar e deixar o *swab* no meio de cultura. Fechar o tubo com a tampa.
- 2.** Repetir o mesmo processo passando outro *swab* na região endoanal (ultrapassando o esfíncter) e mergulhando e deixando o *swab* em outro meio de Todd-Hewitt.



Os *swabs* foram inoculados diretamente no meio de cultura seletivo de Todd-Hewitt, dispensando o meio de transporte, uma vez que a informação clínica pode ser precisa e confiável através desta metodologia, detectando 87,5% das portadoras do EGB (Nomura, 2004). Dessa forma, puderam ficar acondicionados por 24-48 horas ou mais em caixa de isopor, até chegar ao laboratório por meio de *motoboy*.

No laboratório procedeu-se a incubação por 24 horas em estufa a 37 °C em ambiente de aerobiose. O material enriquecido foi semeado, pela técnica de esgotamento, em placa contendo meio de ágar sangue e, posteriormente incubado por 24 horas a 37°C em atmosfera 5% de CO₂. As colônias características de estreptococos beta-hemolíticos e diplococo gram positivas foram repicadas em placas de ágar sangue e incubadas por 16 a 18 horas, a seguir foram identificadas pelo processo da prova de catalase negativa. Após a obtenção de uma cultura

purificada do EGB, identificada através da presença de hemólise e da catalase negativa, a mesma foi confirmada por meio de dois testes: o CAMP e a aglutinação positiva em látex (Figuras 3 e 4) (Anexo 3). A seguir, foram armazenados a -70°C, para posterior determinação do sorotipo e da susceptibilidade antibiótica.

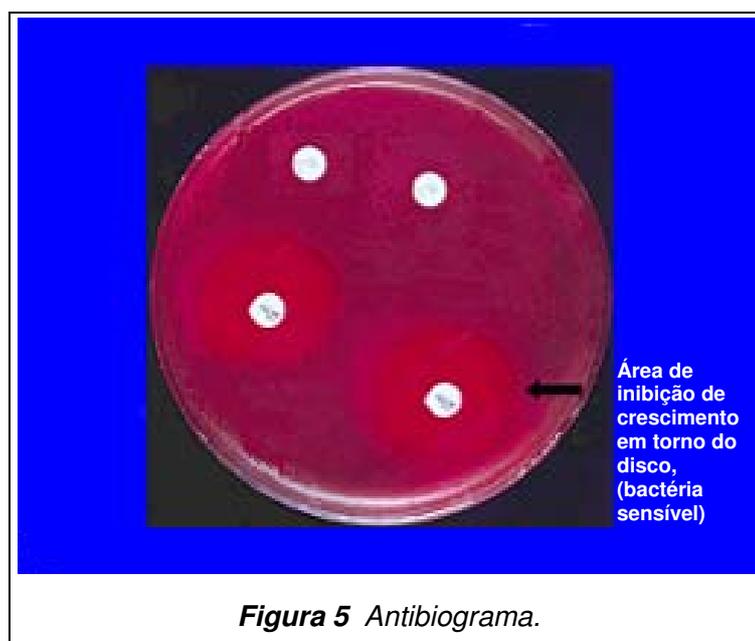


3.5.2. Susceptibilidade antimicrobiana

Cada cepa de EGB isolada foi testada para sete diferentes antimicrobianos. A susceptibilidade a diversos antimicrobianos foi obtida através da técnica de difusão dos antibióticos a partir de discos contendo as concentrações estabelecidas e seguindo a técnica descrita pelo NCCLS (1987). Os discos foram colocados na superfície da placa de ágar de Mueller Hinton com hemácias de carneiro a 5%, inoculada com EGB e incubada a 35°C sob uma atmosfera de 5% CO₂ por 20 horas antes de serem analisados. Os antibióticos testados foram: 10µg de

ampicilina; 10 unidades de penicilina; 15 μ g de eritromicina; 2 μ g de clindamicina; 30 μ g de cefalotina e 10 μ g de gentamicina e 300 μ g nitrofurantoína.

As áreas de inibição de crescimento foram medidas ao milímetro completo mais próximo, usando-se um medidor de diâmetro do halo de inibição em torno de cada disco. Os tamanhos das áreas de inibição foram classificados de acordo com NCCLS e cada cepa teve sua susceptibilidade classificada como sensível, intermediária ou resistente a cada um dos sete antibióticos testados. (Figura 5).



3.5.3. Tipagem sorológica

Para a identificação da sorotipagem foram necessários inicialmente o desenvolvimento e o preparo dos anti-soros, a partir da inoculação em coelhos,

realizada na Universidade Federal do Rio de Janeiro. As etapas desse procedimento foram:

1) Preparação das vacinas dos diferentes tipos sorológicos de *Streptococcus agalactiae*

Amostras padrões de *Streptococcus agalactiae* representando os diferentes sorotipos (relacionadas abaixo) foram semeadas em placas de ágar sangue e incubadas por 24h a 37°C. Após a confirmação da pureza, 5 colônias de cada placa foram repicadas para 5 ml de Caldo Todd-Hewitt e incubadas por 4-6h a 37°C e , em seguida, todo o volume dos tubos foi transferido para 175 ml de caldo Todd-Hewitt e incubado por 24h a 37°C sob agitação.

O volume de cada frasco foi centrifugado a 4.500 x g, em centrífuga refrigerada a 8°C; o sobrenadante desprezado e o sedimento lavado 2x em solução salina 0,85% estéril. A seguir o sedimento foi ressuspenso em 10ml de salina, adicionada de 0,2% de formalina, e mantido em geladeira por até 7 dias, fazendo-se repiques a cada dois dias até que todas as células estivessem mortas. Estas vacinas foram então diluídas a 1:20 e inoculadas em coelhos.

| AMOSTRA | TIPO SOROLÓGICO |
|----------------------|------------------------|
| S.agalactiae SS 615 | Ia |
| S.agalactiae SS 618 | Ib |
| S.agalactiae SS 619 | II |
| S.agalactiae SS 620 | III |
| S.agalactiae SS 1240 | IV |
| S.agalactiae SS 1118 | V |

2) Esquema de inoculação

Cada vacina foi inoculada em, pelo menos, 2 coelhos, brancos, machos, com peso aproximado de 2,5kg. Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas no Biotério Central do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, do Rio de Janeiro, com temperatura controlada e alimento e água *ad libitum*.

A via de inoculação foi por injeção intravenosa na veia marginal da orelha. O esquema de vacinação utilizado foi o seguinte:

- **1ª semana:** 0,5ml
- **2ª semana:** três injeções de 1ml, em três dias seguidos
- **3ª semana:** três injeções de 1ml, em três dias seguidos
- **4ª semana:** sangria-teste. Em caso de boa resposta quanto à formação de anticorpos específicos para o sorotipo, os animais foram sangrados por punção cardíaca e o soro separado.
- **5ª semana:** para os animais que apresentaram pouca resposta, as inoculações prosseguiram até um total de 18 injeções.

Naqueles casos em que os resultados da avaliação dos anti-soros mostraram-se pouco satisfatórios, novos animais foram adquiridos e todo o esquema de preparação das vacinas e inoculação dos animais, reiniciadas.

3) Determinação da especificidade dos anti-soros produzidos

Cada soro foi testado frente aos extratos-padrões (homólogo e heterólogos) dos diferentes sorotipos de *S.agalactiae*. Esses extratos foram preparados a partir de cultivos em 100ml de caldo de Todd-Hewitt, pela técnica de extração ácida de Lancefield (ácido clorídrico 0,2N em salina, a 52º C por 2h).

As reações foram analisadas por diferentes técnicas: precipitação em tubo capilar e imunodifusão em gel de agarose. Quando necessário, os sorotipos foram absorvidos utilizando-se células de *S.agalactiae*, preparadas em caldo Todd-Hewitt e mortas pelo calor a 60º C, por 45 min.

4) Determinação do tipo sorológico das amostras isoladas de parturientes

Cada amostra foi reconfirmada quanto à sua pureza e identificação pela semeadura em placas de ágar sangue, determinação da presença do fator CAMP e pela grupagem sorológica para o grupo B, utilizando-se anti-soro específico.

Em seguida, cada amostra foi semeada em 50ml de caldo Todd-Hewitt, incubada a 37ºC por 24 h, as células foram obtidas por centrifugação a 4.500 x g por 15min e, ao sedimento, foi adicionado 0,4ml de ácido clorídrico a 0,2N em salina. Os tubos foram, então, incubados a 52ºC por 2h e a seguir os extratos neutralizados com NaOH .

Esses extratos foram analisados frente aos anti-soros produzidos através das técnicas de precipitação em tubo capilar, imunodifusão em gel de agarose e reação de co-aglutinação.

As cepas de EGB foram classificadas em um dos sorotipos, de acordo com a resposta ao respectivo anti-soro. No caso de não resposta a qualquer um dos soros testados foi considerada como de sorotipagem não tipada (NT).

3.6. Processamento e análise de dados

As fichas foram revisadas pelo pesquisador no que se refere à legibilidade, qualidade da informação, organização, codificação, digitação, limpeza e consistência dos dados.

3.6.1. Processamento de dados

As fichas de avaliação, depois de preenchidas, foram digitadas duplamente por pessoas diferentes, a fim de uma maior consistência, em uma planilha eletrônica do programa Excel. Posteriormente esta planilha foi exportada para o programa SAS versão 8.2 para a verificação da sua consistência e análise.

3.6.2. Análise dos dados

A prevalência da colonização foi calculada através da fórmula convencional de números de casos detectados pela população em estudo.

Inicialmente todas as variáveis foram estudadas de maneira descritiva, através do cálculo de frequências absolutas e relativas e, no caso das variáveis contínuas, através do cálculo de média, desvio padrão, quartis (25% e 75%), mediana, valores de mínimo e de máximo.

Para estudar a associação das variáveis categóricas com a variável resposta, utilizou-se a razão de prevalência (IC 95%). Estimaram-se as razões de prevalência (RP) de colonização pelo EGB segundo variáveis obstétricas e sociodemográficas. Em cada uma destas variáveis, estas razões foram comparadas entre as respectivas categorias por RP com intervalos de confiança de 95%. As razões de prevalência referentes a cada variável foram ajustadas segundo as demais, através do modelo de regressão de Breslow-Cox, conforme descrito em Skov (1998). A análise dos dados utilizou o programa SAS® versão 8.2.

3.7. Aspectos éticos

As mulheres selecionadas para o estudo foram informadas sobre os objetivos e metodologia da pesquisa, assegurando-lhes o direito de poderem ou não aceitar participar da mesma, sem constrangimento ou modificação de sua assistência médica. Elas só participaram do estudo após terem dado seu consentimento livre e esclarecido. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido pelo residente, previamente capacitado, que efetuou a internação da mulher e explicou detalhadamente seu conteúdo à mesma. Cada

voluntária recebeu e leu (ou lhe foi lido) o TCLE. Após concordarem em participar do estudo assinaram e receberam uma cópia do TCLE (Anexo 2).

Não foi introduzida qualquer modificação na rotina assistencial, a não ser as coletas de *swab* retal e vaginal, procedimento considerado inócuo para a parturiente e o feto.

A identificação das mulheres foi mantida em sigilo ao se retirar a parte inferior da ficha de dados onde constam o nome, número do prontuário, telefone e endereço. Seguiram-se as diretrizes estabelecidas pela “Declaração de Helsinki” (Asociation Médica Mundial, 2000) e os termos da Resolução 196/96 (BRASIL, 1996).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, sob parecer do projeto nº 411/2002 (Anexo 4).

4. Resultados

Das 316 parturientes incluídas no estudo, 46 (14,6%) apresentaram-se colonizadas pelo estreptococo do grupo B. O sítio de isolamento mais freqüente foi o vaginal. Do total das culturas positivas, 37 foram provenientes do sítio vaginal, o que conferiu um índice de acerto (desempenho) de 80,4%. Nove parturientes, cuja cultura vaginal foi negativa de fato, estavam colonizadas pela cultura anorretal, levando a um erro de 19,6% se considerássemos apenas as culturas vaginais. Já em relação ao sítio anorretal, 26 amostras apresentaram culturas negativas nas coletas provenientes deste sítio, embora tenham sido positivas pelo sítio vaginal. O índice de acerto para o sítio anorretal foi de apenas 43,5% e o de erro de 56,5% (Tabela 1).

TABELA 1
Prevalência da colonização pelo estreptococo do grupo B de acordo com o sítio de coleta da amostra

| | Colonização pelo estreptococo do grupo B | |
|----------------------------|--|------|
| | N | % |
| Não colonizada | 270 | 85,4 |
| Colonizada | 46 | 14,6 |
| <i>Sítio de isolamento</i> | | |
| <i>Vaginal</i> | 26 | 56,5 |
| <i>Anorretal</i> | 9 | 19,6 |
| <i>Vaginal + Anorretal</i> | 11 | 23,9 |

A idade média das mulheres foi de 24,3 anos (DP = 6.35). A maioria era da cor branca (59,2%), casada ou com união estável (83,5%) e tinha até oito anos de escolaridade (57,6%). A maior parte das mulheres morava em zona urbana (85,8%), não trabalhava fora de casa (69,3%) e não tinha o hábito de fumar (82,3%). Todas as mulheres referiram um parceiro sexual único nos últimos seis meses.

Na Tabela 2 observa-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as parturientes colonizadas e não colonizadas com relação às características sociodemográficas avaliadas, exceto com a variável trabalhar fora de casa.

Dentre os possíveis fatores de risco estudados, o único que se mostrou associado à presença de colonização pelo EGB foi o fato de a mulher trabalhar fora de casa (RP=1,9; IC 95% = 1,06 a 3,39). A colonização foi menos freqüente entre as adolescentes, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

TABELA 2
Características sociodemográficas das parturientes
de acordo com a de colonização pelo EGB

| Variável | Colonização | | | | Razão de Prevalência | |
|--|-------------|------|---------|------|----------------------|--------|
| | Sim | | Não | | | |
| | n (46) | (%) | n (270) | (%) | RP | IC 95% |
| Idade (anos) | | | | | | |
| < 19 | 3 | 6,5 | 52 | 19,3 | 0,33 (0,10 - 1,07) | |
| ≥ 19 | 43 | 93,5 | 218 | 80,7 | | |
| Estado marital | | | | | | |
| Casada / união estável | 39 | 84,8 | 225 | 83,4 | 1,10 (0,49 a 2,45) | |
| Solteira não vivendo com parceiro / sem parceiro | 7 | 15,2 | 45 | 16,7 | | |
| Cor da pele | | | | | | |
| Branca | 27 | 58,7 | 160 | 59,3 | 1,02 (0,57a 1,84) | |
| Não branca | 19 | 41,3 | 110 | 40,8 | | |
| Escolaridade (anos de estudo) | | | | | | |
| ≤ 8 anos | 24 | 52,2 | 158 | 58,5 | 0,80 (0,45 a 1,43) | |
| > 8 anos | 22 | 47,8 | 112 | 41,5 | | |
| Trabalho fora de casa | | | | | | |
| Sim | 21 | 45,7 | 76 | 28,1 | 1,90 (1,06 a 3,39) | |
| Não | 25 | 54,3 | 194 | 71,9 | | |
| Moradia | | | | | | |
| Urbana | 41 | 89,1 | 230 | 85,2 | 0,73 (0,29 a 1,86) | |
| Rural | 5 | 10,9 | 40 | 14,8 | | |
| Hábito de fumar | | | | | | |
| Sim | 8 | 17,4 | 48 | 17,8 | 0,98 (0,48 - 1,98) | |
| Não | 38 | 82,6 | 222 | 82,2 | | |

Em relação às características obstétricas das mulheres, 43,3% eram primigestas, 38,3% apresentaram ITU na gestação, enquanto amniorrexe e febre intraparto corresponderam a 20,3 % e 7,3 % , respectivamente (Tabela 3).

Observou-se que em 17,4% das mulheres colonizadas o trabalho de parto estava ocorrendo prematuramente. Todavia, não houve diferenças significativas

entre as mulheres colonizadas e não colonizadas com relação à história obstétrica e a outros antecedentes avaliados (Tabela 3).

TABELA 3
Características das parturientes segundo história obstétrica de acordo com status de colonização

| Variável | Colonização | | | | Razão de Prevalência | |
|---|-------------|------|-----|------|----------------------|---------------|
| | Sim | | Não | | | |
| | n | (%) | n | (%) | RP | IC 95% |
| Número de gestações | | | | | | |
| Primigesta | 19 | 41,3 | 118 | 43,7 | 1,09 | (0,61 a 1,96) |
| Não primigesta | 27 | 58,7 | 152 | 56,3 | | |
| Idade gestacional | | | | | | |
| < 37 semanas | 8 | 17,4 | 47 | 17,4 | 1,00 | (0,47 a 2,15) |
| ≥ 37 semanas | 38 | 82,6 | 223 | 82,6 | | |
| Corrimento | | | | | | |
| Sim | 28 | 60,9 | 177 | 65,6 | 0,84 | (0,47 a 2,15) |
| Não | 18 | 39,1 | 93 | 34,4 | | |
| Antecedente de trabalho de parto prematuro | | | | | | |
| Sim | 1 | 2,2 | 18 | 6,7 | 0,35 | (0,05 a 2,52) |
| Não | 45 | 97,8 | 252 | 93,3 | | |
| Antecedente de parto prematuro | | | | | | |
| Sim | 2 | 4,3 | 17 | 6,3 | 0,71 | (0,17 a 2,93) |
| Não | 44 | 95,7 | 253 | 93,7 | | |
| Amniorrexe | | | | | | |
| Sim | 11 | 23,9 | 53 | 19,6 | 1,24 | (0,63 a 2,44) |
| Não | 35 | 76,1 | 217 | 80,4 | | |
| Infecção do trato urinário nesta gravidez | | | | | | |
| Sim | 23 | 50,0 | 98 | 36,3 | 1,61 | (0,90 a 2,87) |
| Não | 23 | 50,0 | 172 | 63,7 | | |
| Febre | | | | | | |
| Sim | 5 | 10,9 | 18 | 6,7 | 1,55 | (0,61 a 3,93) |
| Não | 41 | 89,1 | 252 | 93,3 | | |
| Uso de antibiótico | | | | | | |
| Sim | 19 | 41,3 | 80 | 29,6 | 1,54 | (0,86 a 2,77) |
| Não | 27 | 58,7 | 190 | 70,4 | | |
| Antecedente de óbito neonatal | | | | | | |
| Sim | 2 | 4,3 | 12 | 4,4 | 0,98 | (0,24 a 4,05) |
| Não | 44 | 95,7 | 258 | 95,6 | | |

O uso da presença de pelo menos um fator de risco como indicador da colonização materna demonstrou um baixo desempenho. Os casos falsos positivos foram de 83%, os falsos negativos de 13% e a acurácia de 60% (Tabela 4).

TABELA 4
Correlação entre a presença de fatores de risco e a colonização materna pelo EGB

| Pelo menos um fator de risco | Colonizadas | | Total |
|------------------------------|-------------|-----|-------|
| | Sim | Não | |
| Presente | 21 | 102 | 123 |
| Ausente | 25 | 168 | 193 |
| Total | 46 | 270 | 316 |

S= 46%, E= 62%, VPP= 17%, VPN=87%, Acurácia= 60%, FP=83%, FN= 13%

A susceptibilidade antimicrobiana das 46 amostras de EGB está mostrada na Tabela 5. Nenhuma cepa foi resistente à penicilina, ampicilina, eritromicina e nitrofurantoina. Resistência à clindamicina foi encontrada em oito cepas (17,4 %), à cefalotina em uma (2,2) e à gentamicina em 35 cepas (76,1%). Sensibilidade intermediária foi encontrada em 17,4 % para a penicilina e eritromicina, 13% para ampicilina, 6,5 % para a gentamicina, 15,2% para a cefalotina e 2,2% para a nitrofurantoina. Os antimicrobianos que apresentaram maior eficácia foram a nitrofurantoina com sensibilidade de 97,8%, seguida da ampicilina com 87,0%.

TABELA 5
Distribuição das cepas isoladas segundo a susceptibilidade
aos diversos antimicrobianos testados

| Antimicrobianos | n (46) | % |
|------------------------|--------|------|
| Penicilina | | |
| Sensível | 38 | 82,6 |
| Intermediário | 8 | 17,4 |
| Ampicilina | | |
| Sensível | 40 | 87,0 |
| Intermediário | 6 | 13,0 |
| Eritromicina | | |
| Sensível | 38 | 82,6 |
| Intermediário | 8 | 17,4 |
| Nitrofurantoina | | |
| Sensível | 45 | 97,8 |
| Intermediário | 1 | 2,2 |
| Clindamicina | | |
| Sensível | 38 | 82,6 |
| Resistente | 8 | 17,4 |
| Cefalotina | | |
| Sensível | 38 | 82,6 |
| Resistente | 1 | 2,2 |
| Intermediário | 7 | 15,2 |
| Gentamicina | | |
| Sensível | 8 | 17,4 |
| Resistente | 35 | 76,1 |
| Intermediário | 3 | 6,5 |

Dos 35 casos resistentes à gentamicina, um foi também resistente à clindamicina. Dos oito casos resistentes à clindamicina, apenas um foi também resistente à cefalotina. Apenas quatro cepas não apresentaram resistência a qualquer um dos sete antimicrobianos testados (Quadro 1).

Quadro 1 - Susceptibilidade antimicrobiana de cada cepa a diversos antibióticos

| Caso | Antibióticos | | | | | | |
|------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | AMP | CFL | CLI | ERI | GEN | NIT | PEN |
| 003 | S | S | S | S | R | S | S |
| 025 | S | S | S | S | R | S | S |
| 039 | S | S | S | S | R | S | S |
| 041 | S | I | R | I | S | S | I |
| 044 | S | S | S | S | S | S | S |
| 045 | I | I | R | I | S | S | I |
| 055 | S | S | S | S | R | S | S |
| 056 | I | S | S | S | R | S | S |
| 058 | S | S | S | S | R | S | S |
| 059 | S | S | S | S | R | S | S |
| 061 | S | S | S | S | R | S | S |
| 069 | S | S | S | S | R | S | S |
| 070 | I | R | R | I | S | I | I |
| 081 | S | I | R | I | S | S | I |
| 082 | I | I | R | I | R | S | I |
| 084 | S | S | S | S | R | S | S |
| 104 | S | S | S | S | R | S | S |
| 124 | S | I | R | I | S | S | S |
| 129 | S | S | S | S | R | S | S |
| 146 | S | S | S | S | R | S | S |
| 150 | S | S | S | S | R | S | S |
| 166 | S | S | S | S | R | S | S |
| 184 | S | S | S | S | R | S | S |
| 185 | S | S | S | S | R | S | S |
| 187 | S | S | S | S | R | S | S |
| 192 | S | S | S | S | R | S | S |
| 193 | S | I | R | I | S | S | I |
| 201 | S | S | S | S | R | S | S |
| 203 | S | S | S | S | R | S | S |
| 208 | S | S | S | S | R | S | S |
| 210 | S | S | S | S | R | S | S |
| 223 | I | I | R | I | S | S | I |
| 241 | S | S | S | S | R | S | S |
| 242 | S | S | S | S | R | S | S |
| 251 | S | S | S | S | I | S | S |
| 252 | S | S | S | S | I | S | S |
| 255 | S | S | S | S | I | S | S |
| 260 | S | S | S | S | R | S | S |
| 262 | S | S | S | S | R | S | S |
| 271 | S | S | S | S | R | S | S |
| 283 | S | S | S | S | R | S | S |
| 310 | S | S | S | S | R | S | S |
| 321 | S | S | S | S | R | S | S |
| 324 | I | S | S | S | R | S | I |
| 325 | S | S | S | S | R | S | S |
| 335 | S | S | S | S | R | S | S |

S= sensível; R= resistente; I= intermediário.

Foram identificados sete sorotipos diferentes de EGB na amostra estudada e houve uma predominância do sorotipo Ib. Das 46 cepas de EGB analisadas,

24% pertenciam ao sorotipo Ib, 19% ao sorotipo II e 17% ao sorotipo Ia. Uma parturiente albergava mais de um tipo sorológico de EGB (III e Ia). Em oito casos (17%) não foi possível a recuperação das cepas para sorotipagem, ou as mesmas não puderam ser tipadas com os anti-soros disponíveis, sendo, portanto, definidas como não tipadas (NT) (Tabela 6).

TABELA 6
Distribuição dos sorotipos dos EGB isolados das parturientes (n=46)

| Sorotipo | N | % |
|----------|----|------|
| Ia | 8 | 17,4 |
| Ib | 11 | 23,9 |
| II | 9 | 19,6 |
| III | 2 | 4,3 |
| III e Ia | 1 | 2,2 |
| IV | 3 | 6,5 |
| V | 4 | 8,7 |
| NT* | 8 | 17,4 |

*NT = não tipadas

Quarenta e duas cepas (91,3%) apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados, a maioria contra a gentamicina. Das 35 cepas resistentes à gentamicina, 34 foram resistentes a apenas este antimicrobiano e, da mesma forma, das oito resistentes à clindamicina, seis foram apenas a este antibiótico (Tabela 7).

Oito cepas do sorotipo Ib, oito do sorotipo II, sete do sorotipo Ia, três do sorotipo IV, quatro do sorotipo V e duas do III foram resistentes à gentamicina. E uma cepa do sorotipo Ib foi resistente à clindamicina (Tabela 7).

Apenas quatro amostras não foram resistentes aos antimicrobianos testados, sendo duas do sorotipo Ib, uma do sorotipo Ia e outra do sorotipo II.

TABELA 7
Resistência antimicrobiana dos EGB segundo o sorotipo

| Resistentes | Sorotipos | | | | | | | | Total |
|------------------------------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| | Ia | Ib | II | III | III,Ia | IV | V | NT | |
| Apenas à gentamicina | 7 | 8 | 8 | 2 | | 3 | 4 | 2 | 34 |
| Apenas à clindamicina | | 1 | | | | | | 5 | 6 |
| À clindamicina e gentamicina | | | | | 1 | | | | 1 |
| À clindamicina e cefalotina | | | | | | | | 1 | 1 |
| A nenhum antimicrobiano | 1 | 2 | 1 | | | | | | |
| Total | 7 | 9 | 8 | 2 | 1 | 3 | 4 | 8 | 42 |

A Tabela 8 mostra uma distribuição da susceptibilidade antimicrobiana de acordo com os vários sorotipos isolados. Observa-se que nenhum sorotipo em particular demonstrou maior resistência a um antibiótico específico.

TABELA 8
Distribuição da sorotipagem do EGB de acordo
com a susceptibilidade antimicrobiana

| Antibiótico | Sorotipagem | | | | | | | | Total |
|------------------------|-------------|----|----|-----|---------|----|---|-----|-------|
| | Ia | Ib | II | III | III, Ia | IV | V | NT* | |
| Penicilina | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 8 | 2 | 0 | 3 | 4 | 3 | 38 |
| Intermediário | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 5 | 8 |
| Ampicilina | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 7 | 2 | 0 | 3 | 4 | 6 | 40 |
| Intermediário | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 6 |
| Eritromicina | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 9 | 2 | 0 | 3 | 4 | 2 | 38 |
| Intermediário | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 7 | 8 |
| Nitrofurantoína | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 9 | 2 | 1 | 3 | 4 | 8 | 45 |
| Intermediário | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Clindamicina | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 9 | 2 | 0 | 3 | 4 | 2 | 38 |
| Intermediário | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 7 | 8 |
| Cefalotina | | | | | | | | | |
| Sensível | 8 | 10 | 9 | 2 | 0 | 3 | 4 | 2 | 38 |
| Resistente | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Intermediário | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 6 | 7 |
| Gentamicina | | | | | | | | | |
| Sensível | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 8 |
| Resistente | 7 | 8 | 8 | 2 | 1 | 3 | 4 | 2 | 35 |
| Intermediário | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |

*NT = não tipados

5. Discussão

Este estudo evidenciou uma prevalência de 14,6% de parturientes colonizadas pelo EGB. Este resultado é similar ao encontrado na literatura, apesar da grande variação dessas taxas na dependência da região em estudo (Baker e Edwards, 1990; Hickman et al., 1999).

A taxa de prevalência da colonização por EGB é bastante variável mundialmente (4% a 30%), sendo em média 18% (Stoll e Schuchat, 1998). No Brasil, estudo com gestantes no terceiro trimestre de gravidez, atendidas no Serviço de Obstetrícia do Hospital Santa Lúcia de Brasília, encontrou uma taxa de colonização de 4% (Rocha et al., 1984). Na Universidade Estadual de Londrina encontrou-se uma taxa de colonização de 14,9% (Beraldo et al., 2004), no Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, 15% (Mocelin et al., 1995) e na Unicamp, em situações de TPP e RPM, 27,6% (Nomura, 2004).

Diferentes estudos mostram variadas taxas de colonização segundo a origem, as características da população estudada e o modo de obtenção do material para cultura (Smânia Jr et al., 1986; Schrag et al., 2002).

É interessante ressaltar que a coleta dupla (anorretal e vaginal) aumenta sobremaneira a taxa de prevalência da colonização pelo EGB, de tal forma que a coleta de apenas um sítio tornaria o protocolo de profilaxia menos eficaz na redução da incidência de infecção neonatal (Yancey et al., 1996; Schrag et al., 2002; Beraldo et al., 2004; Nomura, 2004).

Este estudo demonstrou que ao coletarmos apenas cultura anorretal, estaríamos deixando de identificar 56,5% das parturientes colonizadas. O sítio vaginal foi o que apresentou maior taxa de isolamento, fato que está em concordância com os de outros estudos anteriores (Beraldo et al., 2004; Moyo et al., 2000; Smania Jr et al., 1986). Mesmo assim, utilizando-se apenas amostra vaginal, estaríamos deixando de diagnosticar a colonização em cerca de 20% das gestantes.

Por isso, a melhor orientação ainda é a dupla coleta, que pode, inclusive ser com o mesmo *swab* para fins de economia. O único cuidado a ser sempre observado é o de coletar primeiro da região vaginal e por último da região anorretal. Para tanto, ao solicitarmos exame laboratorial para a pesquisa do EGB, deve-se esclarecer que seja realizada a coleta dupla (retal e vaginal) e em meio seletivo de Todd-Hewitt.

Outro fator que influencia sobremaneira a taxa de colonização pelo EGB é o meio de cultura utilizado. O meio de Todd-Hewitt é o de escolha e o que determina maiores taxas de detecção do EGB. O presente estudo utilizou a inoculação direta dos *swabs* neste meio seletivo. Estudos que encontraram

baixas taxas de prevalência utilizaram um meio de transporte (tipo Stuart ou Amies) para a inoculação dos *swabs* e posterior transporte até o laboratório (Torres et al., 2000; Toresani et al., 2001).

Fatores de risco foram objeto de vários estudos, sendo o maior deles envolvendo 7.742 mulheres, do grupo intitulado *Vaginal infections and prematurity Study Group*, que demonstrou, assim como este estudo, 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).

Nos vários estudos de prevalência do estreptococo do grupo B a taxa de colonização é maior nas primigestas que em múltiparas (três ou mais gestações), em mulheres com nível socioeconômico baixo, em mulheres com idade inferior a vinte anos (a correlação entre a concentração de anticorpos maternos e idade materna pode explicar a associação epidemiológica), nas mulheres negras, em relação às mulheres de outros grupos étnicos, e nas mulheres diabéticas (Schuchat, 1998; Edwards e Baker, 2000; Rocha et al., 2002).

Todavia, diferenças nestas predisposições foram encontradas em vários outros trabalhos, como, por exemplo, apresentar maior probabilidade de colonização naquelas mulheres com maior idade e menor escolaridade (Regan et al., 1991) ou ser mais freqüente em jovens de maior escolaridade (Moyo et al., 2000).

O presente estudo não demonstrou associação significativa entre estes fatores e a presença de colonização pelo EGB, exceto no que se refere ao fato

de trabalhar fora de casa. Talvez isso possa ser explicado pelo fato de a mulher expor-se mais à bactéria, pelo uso mais freqüente de vasos sanitários de utilização comum (públicos). Além disso, essas mulheres podem ser imunologicamente mais susceptíveis devido ao estresse do trabalho, condições de nutrição e a outras exposições a que fica submetida quando trabalhando fora de casa.

Notou-se uma prevalência de 93,5% de parturientes com idade \geq 19 anos colonizadas pelo EGB e uma taxa de 17,4% de prematuridade entre as colonizadas. Contudo, não se demonstrou associação estatística significativa entre a idade, bem como prematuridade e presença de colonização pelo EGB, que talvez fosse observada em uma amostra maior. Existe relato de que gestantes em TPP apresentam taxa de colonização pelo EGB significativamente maior do que gestantes a termo (Feikin et al., 2001).

O *status* de defesa do feto também é fator adicional que aumenta o risco de transmissão do estreptococo do grupo B, pois uma criança pré-termo tem menos capacidade para resistir aos organismos invasivos, tendo maior chance para desenvolver a doença. A ruptura prolongada de membranas (maior ou igual a 18 horas), corioamnionite, febre materna intraparto (temperatura maior ou igual a 38°C), trabalho de parto prematuro (menor que 37 semanas de gestação), infecção urinária ou bacteriúria pelo estreptococo do grupo B na gestação atual também são fatores de risco para aquisição do estreptococo do grupo B. Porém, esses achados não foram significativamente associados à maior colonização materna neste estudo.

Um aumento na taxa de colonização entre mulheres sexualmente muito ativas poderia sugerir transmissão sexual, em especial pelo aumento do número de parceiros (Moyo et al., 2000). Confirma esta sugestão o fato de que mulheres mais jovens são mais colonizadas, talvez por serem de um grupo sexualmente mais ativo (Regan et al., 1991). O presente estudo encontrou que todas as mulheres colonizadas apresentaram apenas um único parceiro nos seis meses que antecederam a gestação.

Quanto aos fatores associados à colonização pelo EGB encontrados neste estudo, a febre apareceu em 7,3% das gestantes, a RPM em 20,3% e a prematuridade em 17,3%, porém se fossem utilizados como indicadores de colonização superestimariam a real necessidade de antibioticoprofilaxia, tendo em vista que nenhum destes fatores foi estatisticamente associado à colonização materna.

A abordagem por fatores de risco, embora de fácil execução e menor custo, possui baixo valor preditivo e elevado uso indevido de antibióticos. No estudo de Nomura (2004) estimou-se que três em cada quatro mulheres com TPP e/ou RPM receberiam antibióticos desnecessariamente por esta abordagem.

Neste estudo encontrou-se que pelo menos um fator de risco estava presente em 39% das parturientes. Isso levaria à prescrição desnecessária de antibioticoprofilaxia em um número significativo de mulheres (duas em cada cinco parturientes). Ainda assim, utilizando-se apenas dos fatores de risco, estaríamos deixando de realizar a profilaxia em 13% das mulheres realmente infectadas.

A acurácia dos fatores de risco como indicador de profilaxia intraparto foi de apenas 60%. Além disso, o número de casos falsos positivos foi de 83%, o que levaria a um elevado uso desnecessário de antibiótico e conseqüente aumento do risco de desenvolvimento de resistência bacteriana. Portanto, é fundamental o conhecimento do estado de colonização materna pelo EGB a fim de realizar a profilaxia da infecção neonatal.

Assim, a profilaxia recomendada para a melhor prevenção da doença neonatal é o uso de antibiótico durante o trabalho de parto apenas nas mulheres sabidamente colonizadas pelo EGB. A penicilina é a droga de primeira escolha, sendo a ampicilina uma droga alternativa (CDC, 2002).

Essa estratégia tem-se mostrado bastante eficaz na diminuição da septicemia neonatal pelo EGB, mas por outro lado também pode selecionar e induzir a resistência bacteriana, principalmente para a ampicilina, expondo o feto a bactérias mais agressivas e resistentes, como, por exemplo, a *E.coli*, e dessa maneira não contribuindo na redução da mortalidade por sepse *sensu lato* (Levine et al., 1999). Por isso é importante o conhecimento do perfil de resistência do EGB na população estudada.

No presente estudo não encontramos resistência à penicilina, ampicilina, eritromicina e nitrofurantoína. A sensibilidade à penicilina não tem sofrido alterações significativas há duas décadas, sendo que todas as cepas testadas até o presente demonstraram-se sensíveis a este antimicrobiano (Fracalanza e Benchetrit 1986;

Lin et al., 2000). Apenas uma susceptibilidade intermediária de algumas cepas tem sido descrita por alguns autores (Betriu et al., 1994; Simões et al., 2004).

Quanto à eritromicina, o estudo ORACLE, com o objetivo de prolongar o período de latência após a ruptura das membranas e reduzir o risco de infecção por outros agentes, acabou evidenciando benefício na redução da morbidade neonatal com o uso deste antimicrobiano. Provavelmente os achados deste estudo possam estar mascarados justamente pela colonização pelo EGB, que não foi um dado apresentado pela equipe do estudo. Assim, a redução de pneumonia e sepsis neonatal no grupo que recebeu a eritromicina poderia ser decorrente apenas da profilaxia do EGB (Kenyon et al., 2001).

Os achados do presente estudo não demonstraram resistência à eritromicina. Porém, este achado não é compartilhado pela maioria das outras publicações, que encontraram taxas significativas de resistência à eritromicina e, portanto, questionam a recomendação do CDC de sua utilização como alternativa para os casos de alergia à penicilina (Fracalanza e Benchetrit 1986; Pearlman et al., 1998; Rouse et al., 1998; Lin et al., 2000; Silverman et al., 2000; Simões et al., 2004). Na região estudada a eritromicina poderia ser uma alternativa, com a desvantagem de não ser disponível na apresentação intravenosa, o que seria desejável no caso da profilaxia intraparto e por apresentar baixa passagem transplacentária com baixo nível fetal, tornando sua eficácia ainda mais limitada para a profilaxia da infecção neonatal.

Como também foi encontrada alta sensibilidade à nitrofurantoina (97,8%), este antimicrobiano poderia ser de escolha nos casos de ITU causadas pelo EGB em gestantes, tendo em vista que a resistência aos antibióticos normalmente utilizados para o tratamento da ITU pela *E. coli* pode ser diferente para o EGB. Devido às infecções do trato urinário pelo EGB e *E. coli* estarem associadas ao aumento das prevalências de parto prematuro e ruptura prematura de membranas, o tratamento da ITU é imprescindível.. Reforça esta sugestão o fato de ter-se encontrado, em recente estudo brasileiro, associação entre a colonização materna pelo EGB e a presença de infecção urinária (Nomura, 2004).

Já em relação à resistência a clindamicina, os achados deste estudo são similares aos encontrados na literatura, que têm demonstrado taxas de resistência de 4% a 19% (Pearlman et al., 1998; Rouse et al., 1998; Lin et al., 2000; Silverman et al., 2000; Simões et al., 2004). Como a clindamicina é a outra alternativa recomendada pelo CDC em gestantes alérgicas a penicilinas, as altas taxas de resistência reforçam a necessidade de antibiograma pelo menos nos casos em que as penicilinas não possam ser utilizadas.

Por isso, alguns autores têm sugerido as cefalosporinas como uma opção alternativa (Liu et al., 1997; Silverman et al., 2000; Fiore Mitchell et al., 2001). Nos casos de contra-indicação à penicilina, o uso do antibiograma ou o uso da cefalotina seria mais apropriado nas gestantes da população estudada, tendo em vista que 82,6% das cepas do EGB foram sensíveis à cefalotina no presente estudo. A cefalotina merece destaque, pois além de induzir pouca resistência a outros patógenos e de ser uma opção econômica, é um antibiótico

de fácil disponibilização. A adoção da cefalotina parece ser a melhor opção nos casos em que o antibiograma não for disponível.

A maior taxa de resistência encontrada foi à gentamicina, sendo que praticamente 4/5 das cepas deste estudo foram resistentes a este antimicrobiano. Resultados semelhantes também foram encontrados em outros estudos, inclusive em estudo brasileiro anterior (92,5%) (Fracalanza e Benchetrit 1986).

Quanto à sorotipagem, um estudo canadense demonstrou que 81% das doenças neonatais precoces foram causadas pelo EGB dos sorotipos Ia, Ia/c, III e V e 81% das doenças tardias pelo sorotipo III (Davies et al., 2001b).

Da mesma maneira, um estudo francês também encontrou o sorotipo III como o mais freqüente (32%), seguido do sorotipo V (22%) (Berg et al., 2000). Estes dados também são concordantes com um estudo africano (Moyo et al., 2000). Em outros locais da Europa, como Inglaterra e Noruega, os sorotipos predominantes foram o III (33,8%) e Ib (21,3%) (Kvam et al., 1995).

Apesar dos estudos demonstrarem maior predominância para o sorotipo III, nota-se que a distribuição sorológica varia na dependência da população em análise. Nos estados norte-americanos observou-se predominância do sorotipo III em Houston e na Califórnia; do sorotipo II na Flórida e do I em Maryland e Atlanta. Já nos países africanos o sorotipo III foi mais freqüente em Ibadan, enquanto que o II predominou em Gâmbia (Toresani et al., 2001). Em Beijing, China, os sorotipos II (33%), III (23%) e Ia (16%) foram os predominantes (Adong et al., 1998).

Nos países latino-americanos, o sorotipo III esteve presente em 47,6% na Argentina (Toresani et al., 2001). Os dados sobre os sorotipos mais prevalentes no Brasil ainda são escassos. Em Florianópolis, os sorotipos mais freqüentes foram II/lc (Iac+ II) e o III (Smânia Jr et al., 1986) e no Rio de Janeiro, os sorotipos Ib e Iac (Benchetrit et al., 1982).

Tem sido bem documentado que anticorpos contra o EGB são protetores. Porém poucos indivíduos produzem quantidades suficientes destes anticorpos. Recentemente foi desenvolvida uma vacina contra o EGB sorotipo III, mas apenas 40% das mulheres vacinadas foram imunizadas (Baker et al., 1988).

A soma do sorotipo III ao V constitui 91% das culturas, levando à conclusão de que a inclusão dos sorotipos Ia, III e V na vacina, ou ao menos III e V, poderia teoricamente proporcionar proteção contra o EGB na maioria dos casos invasivos (Davies et al., 2001a).

Porém, enquanto o sorotipo III foi mais comum na maioria das populações, neste estudo ele ocorreu em apenas 4,3% do total das cepas de EGB isoladas. Isso pode sugerir que uma vacina somente contra este sorotipo teria pouco impacto na população estudada. Se outros estudos com população maior confirmarem as cepas mais prevalentes, aqui encontradas, uma vacina teria que abrangê-los para ser eficaz.

Há relatos sobre uma vacina pentavalente contra os sorotipos Ia, Ib, II, III e V que poderia proteger aproximadamente 95% da população estudada (Harrison et al., 1998). A proposta deste estudo foi também determinar a

freqüência dos sorotipos no Hospital Escola de Jundiaí, no intuito de avaliar o impacto de uma futura medida preventiva através de vacinas. Uma vacina englobando o sorotipo Ib protegeria praticamente quase 24% das gestantes e a associação dos sorotipos Ia, Ib e II em uma mesma vacina proporcionaria uma proteção de 61% na população estudada. Estudos com vacinas vêm sendo desenvolvidos, mas não são uma opção viável em curto prazo (Schrag, 2004).

O fato de não se ter observado correlação entre os sorotipos e a maior resistência antimicrobiana demonstra que o conhecimento dos sorotipos não tem aplicabilidade clínica, não sendo necessário sua realização para a quimioprofilaxia, apresentando importância apenas na futura elaboração de vacinas.

Os resultados deste estudo justificam a importância da implementação de estratégias profiláticas por se ter encontrado um alto índice de prevalência da colonização pelo EGB e, principalmente, por não apresentar fatores que auxiliem na determinação de possíveis gestantes colonizadas. Nesse sentido, apesar da ampla opção quimioprofilática demonstrada, uma elevada porcentagem de gestantes receberia antibióticos sem necessidade, o que para um hospital de referência como o de Jundiaí, passa a ser um dado relevante, pois implicaria resistência bacteriana e custos desnecessários. Isso obriga a realização de culturas específicas para a sua identificação em todas as gestantes, cujo custo-benefício já foi positivamente simulado em alguns trabalhos (Moehe-Boetani et al., 1999; Moore et al., 2003; Nomura, 2004).

A falta do conhecimento da real dimensão sobre este tema torna o problema ainda mais sério, culminando nas dramáticas conseqüências da infecção neonatal causada pelo EGB. Cada vez maior é a responsabilidade e o envolvimento do obstetra nesta questão, principalmente pelo fato de ser passível de prevenção.

Mas apesar da alta prevalência do EGB também ter sido encontrada neste estudo, esse fato não tem sido suficientemente valorizado e analisado com relação ao impacto da morbidade e mortalidade neonatal.

O rastreamento é relativamente barato e com resultados eficientes; portanto, a não adoção de *screening* sistemático é injustificável em termos de saúde pública. Através de dados confiáveis que caracterizam a realidade do problema na população estudada, surge, a partir destes resultados, mais uma contribuição para enfatizar a necessidade de elaboração e adoção de estratégias profiláticas mais apropriadas à nossa realidade.

6. Conclusões

1. A prevalência da colonização pelo EGB no trato genital de parturientes do HUJ foi de 14,6%.
2. O único fator associado significativamente à colonização materna pelo EGB foi o fato de a mulher trabalhar fora de casa.
3. Nenhuma cepa foi resistente à penicilina, ampicilina, eritromicina e nitrofurantoina. A maior resistência encontrada foi para a gentamicina (76,1%), seguida pela clindamicina (17,4%) e pela cefalotina (2,2%).
4. O sorotipo de EGB mais freqüente foi o Ib (23,9%), seguido pelos sorotipos II e Ia (19,6% e 17,4%, respectivamente).
5. Não houve correlação entre o sorotipo e a maior resistência antimicrobiana.

7. Referências Bibliográficas

Adong S, Yinzi Z, Guirong Z, Yonghong Y, Zaifang J. Experimental study on distribution of serotypes and antimicrobial patterns of Group B streptococcus strains. **Chin Medical J** 1998; 111:615-8.

Asociación Médica Mundial. Declaração de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos.2000. Disponible em: http://www.wma.net/s/policy//7-c_s.html. [2001 fevereiro 09].

Baker CJ, Barrett FF. Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. **J Pediatr** 1973; 83:919-25.

Baker CJ, Kasper DL. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. **N Engl J Med** 1976; 294:753-6.

BAKER, C.J.; RENCH, M.A.; EDWARDS, M.S. Imunization of pregnant women with a polysaccharide vaccine. **N Engl J Med**. 319: 1180-5, 1988.

Baker CJ, Edwards MS. Group B streptococcal infections. In: Remington J, Klein JO. (eds.). **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**. 3th ed. Philadelphia: PA Saunders; 1990. p.742-97.

Baker CJ, Edwards MS. Group B streptococcal infections. In: Remington J, Klein JO. (eds.). **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p.980-1054.

Bayer AC, Chow AW, Anthony BF, Guze LB. Serious infections in adults due to group B streptococci. **Am J Med** 1976; 61:498-503.

Beraldo C, Brito ASJ, Saridakis HO, Matsuo T. Prevalência da colonização vaginal e anorretal por Estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre. **Rev Bras Ginec Obstet** 2004; 26:543-9.

Benchetrit LC, Fracalanza SEL, Peregrino H, Camelo AA, Sanches LALR. Carriage of streptococcus agalactiae in women and neonates and distribution of serological types: a study in Brazil. **J Clin Microbiol** 1982; 15:787-90.

Berg S, Torllfors B, Lagergard T, Zackrisson G, Claesson BA. Serotypes and clinical manifestations of group B streptococcal infections in western Sweden. **Clin Microbiol Infect** 2000; 6:9-13.

Bergeron MG, Ménard C, Picard FJ, Gagnon M, Bernier M, Ouellette M. et al. Rapid detection of group b gliptococci in pregnant women at delivery. **N Engl J Med** 2000; 343:175-9.

Betriu C, Gomez M, Sanchez A, Cruceyra A, Romero J, Picazo JJ. Antibiotic resistance and Penicillin tolerance in clinical isolates of group B Streptococci. **Am S Microbiol** 1994; 38:2183-6.

Blackwell S, Romero R, Chaworapongsa T, Kim YM, Bujold E, Espinoza J. et al. Maternal and fetal inflammatory responses in unexplained fetal death. **Matern Fetal Neonatal Med** 2003;14:151-7.

Blumberg HM, Stephens DS, Licitra C. Molecular epidemiology of group B infections: use of restriction endonuclease analysis of chromosomal DNA restriction fragment length polymorphisms of ribosomal RNA genes (Ribotyping). **J Infect Dis** 1992; 166:574-8.

Boyer KM, Gotoff SP. Strategies for chemoprophylaxis of GBS early-onset infections. **Antibiot Chemother** 1985; 35:267-80.

Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. **N Engl J Med** 1986; 314:1665-9,.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética**, 4: 15-25, 1996.

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

Campbell JR, Hillier SL, Krohn MA, Ferrieri P, Zaleznik DF, Baker CJ. Group B streptococcal colonization and serotype-specific immunity in pregnant women at delivery. **Obstet Gynecol** 2000; 96:498-503.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: A Public Health Perspective. **Morb Mortal Wkly Rep** 1996; 45(RR-7):1-25.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. **Morb Mortal Wkly Rep** 2002; 51(RR-11):1-22.

Chen KT, Tuomala RE, Cohen AP, Eichenwald EC, Lieberman E. No increase in rates of early-onset neonatal sepsis by non-group B Streptococcus or ampicillin-resistant organisms. **Am J Obstet Gynecol** 2001; 185:854-8.

Christensen KK, Dahlander K, Ekstrom A, Sveningsen N, Christensen P. Colonization of newborns with group B streptococci: relation to maternal urogenital carriage. **Scand J Infect Dis** 1981; 13:23-7.

Claeys G, Verschraegen G, Temmerman M. Modified Granada Agar Medium for the detection of group B Streptococcus carriage in pregnant women. **Clin Microbiol Infect** 2001; 7:22-4.

Davies HD, Adair C, McGeer A, Ma D, Robertson S, Mucenski M. et al. Antibodies to capsular polysaccharides of group B Streptococcus in pregnant Canadian women: relationship to colonization status and infection in the neonate. **J Infect Dis** 2001a; 184:285-91.

Davies HD, Raj S, Adair C, Robinson J, McGeer A. Population-based active surveillance for neonatal group B streptococcal infections in Alberta, Canada: implications for vaccine formulation. **Pediatr Infect Dis J** 2001b; 20:879-84.

Dillon Jr HC, Gray E, Pass MA, Gray BM. Anorectal and vaginal carriage of group B Streptococci during pregnancy. **J Infect Dis** 1982; 145:794-9.

Doran KS, Nizet V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. **Mol Microbiol** 2004; 54:23-31.

Dwards MS, Baker CJ. *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus). In Mandell, Bennett and Dolin. **Principles and Practice of Infectious Diseases**, 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p.2156-67.

Embleton ND. Fetal and neonatal death from maternally acquired infection. ***Paediatr Perinat Epidemiol*** 2001; 15:54-60.

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; 184:427-33.

Fiori Mitchell T, Pearlman MD, Chapman RL, Bhatt-Mehta V, Faix RG. Maternal and transplacental pharmacokinetics of cefazolin. ***Obstet Gynecol*** 2001; 98:1075-9.

Fracalanza SEL, Benchetrit Jr LC. Susceptibilidade de estreptococos do grupo B isolados no período perinatal aos antimicrobianos. ***Rev Bras Med*** 1986; 43:221-4.

Harrison LH, Elliot JA, Dwyer DM. Serotype distribution of invasive group B streptococcal isolates in Maryland: implications for vaccine formulation. ***J Infect Dis*** 1998; 177:998-1002.

Hickman ME, Rench MA, Ferrieri P, Baker CJ. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. ***Pediatrics*** 1999; 104:203-9.

Katz VL. Management of group B streptococcal disease in pregnancy. ***Clin Obstet Gynecol*** 1993; 36:832-42.

Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W. Oracle Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomized trial. ORACLE Collaborative Group. ***Lancet*** 2001; 357:979-88.

Kvam AL, Efstratiou A, Bevanger L, Cookson BD, Marticorena IF, George RC, et al. Distribution of serovariants of group B Streptococci in isolates from England and Norway. ***J Med Microbiol*** 1995; 42:246-50.

Levine EM, Ghai V, Barton JJ, Strom CM. Intrapartum antibiotic Profilaxis increases the incidence of Gram-Negative neonatal sepsis. ***Infect Dis Obstet Gynecol*** 1999; 7:210-3.

Lin FYC, Azimi PH, Weisman LE, Philips III JB, Regan J, Clark P. et al. Antibiotic susceptibility profiles for Group B Streptococci isolated from neonates, 1995,1998. ***Clin Infect Dis*** 2000; 31:76-9.

Liu JW, Wu JJ, Ko WC, Chuang YC. Clinical characteristics and antimicrobial susceptibility of invasive group B streptococcal infestions in nonpregnant adults in Taiwan. ***J Formosan Med Assoc*** 1997; 96:628-33.

Main EK, Slagle T. Prevention of early-onset invasive neonatal group B streptococcal didease in a private hospital setting: the superiority of culture-based protocols. ***Am J Obstet Gynecol*** 2000; 182:1344-54.

Mandell GL, Sande MA. Agentes antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas e outros antibióticos beta-lactâmicos. In: Goodman & Gilman, editores. As bases farmacológicas da terapêutica. Tradução em português da 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.706-27.

Meyn LA, Hillier SL. Ampicililin Susceptibilities of Vaginal and Placental Isolates of group B Streptococcus and *Escherichia coli* Obtained between 1992 and 1994. ***Antimicrob Agents Chemother*** 1997; 41:1173-4.

Mikamo H, Higa M, Sato Y, Hua YX, Yasuda-Kawazoe K, Tamaya T. Preventive procedures against GBS infection by means of antibody measurement. ***Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi*** 2000; 11:33-7.

Miura E, Martin MC. Group B streptococcal neonatal infections in Rio Grande do Sul, Brazil. ***Rev Inst Med Trop São Paulo*** 2001; 43:243-6.

MMWR. Hospital-based policies for prevention perinatal Group B streptococcal disease-United States, 1999. **MMWR Morb mortal wkly Rep** 2000; 49(41):936-40. [Published erratum appears in: **MMWR Morb mortal Wkly Rep** 2000; 49(42):966.

Moehe-Boetani JC; Schuchat A, Plikaytis BD, Smith D, Broome CV. Comparison of prevention strategies for neonatal group B streptococcal infection: a population-based economic analysis. **JAMA** 1993; 270:1442-8.

Moehe-Boetani JC, Lineu TA, Ray GT, Escobar G. Preventing neonatal group B Streptococcal disease: cost-effectiveness in health maintenance organization and the impact of delayed hospital discharge for newborns who received intrapartum antibiotics. **Pediatrics** 1999; 103:703-10.

Mocelin CO, Carvalho DAF, Brites C, Christofolli D, Mocelin AO, Fracalanza SEL. et al. Isolamento de Streptococcus agalactiae de gestantes na região de Londrina, PR. **RBGO** 1995; 17:915-8.

Monif GRG. Maternal risk factors for perinatal septicemia due to the enterobacteriaceae. **Am J Perinatol** 2000; 17:19-22.

Moore MR, Scharag SJ, Schuchat A. Effects os intrapartum antimicrobial prophylaxis for prevention of group B streptococcal disease on the incidence and ecology of early-onset neonatal sepsis. **Lancet Infect Dis** 2003; 3:201-13.

Moyo SR, Hagerstrand I, Nystrom, Tswana SA, Bloomberg L, Bergstrom S. et al. Stillbirth and intrauterine infection, histological chorioamnionitis and microbiological findings. **Inf J Gynecol Obstet** 1996; 54:115-23.

Moyo SR, Mudzori J, Tswana AS, Maeland JA. Prevalence, capsular type distribution, anthropometric and obstetric factors of group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*) colonization in pregnancy. **Cent Afr Med** 2000; 46: 115-20.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards Documento NCCLS M22-A. **Quality assurance for commercially prepared culture media**. Vilanova 1987.

Nomura ML. **Colonização maternal e neonatal por estreptococo do grupo B em gestantes com trabalho de parto prematuro e/ou ruptura prematura pré-termo de membranas**. Campinas, 2004. [Tese –Doutorado – Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP].

Pearlman MD, Pierson CL, Faix RG. Frequent resistance of clinical Group B Streptococci Isolates to clindamycin and Erythromycin. **Obstet Gynecol** 1998; 92:258-61.

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

Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. For the Vaginal Infections and Prematurity Study Group. The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy. **Obstet Gynaecol** 1991; 77:604-10.

Regan JA, Klebanoff MA, Nugent RP. Colonization with group B Streptococci in pregnancy and adverse out come. **Am J Obstet Gynecol** 1996; 174:1354- 60.

Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hisatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF. et al. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). **Rev Soc Bras Med Trop** 2000; 33(6).

Rocha MLF, Beltrame LMR, Guedes SC. Prevalência do streptococcus agalactiae na flora vaginal de gestantes do último trimestre. **Rev Bras Patol Clin** 1984; 20:110-2.

Rocha JES, Tomaz ACP, Rocha DB. Morbidade materna e morbimortalidade perinatal associada à infecção ascendente na rotura prematura das membranas. **RBGO** 2002; 24:15-20.

Rosa M, Rodriguez-Granger J, Cueto-Lopez M, Sampedro A, Gaye EB, Haro JM. et al. Use of Granada Médium To Detest Group B Streptococcal Colonization in Pregnant Women. **J Clin Microbiol** 1999; 37:2674-7.

Rosa M, Rodriguez-Granger J, Ruiz-Pérez M, Sampedro A. Uso Del médio Granada y control de qualidade de médios de cultivo. **Enfermid Infec Microbiol Clin** 2000; 18:426-7.

Rouse DJ, Andrews WW, Lin FC, Mott CW, Ware JC, Philips III JB. Antibiotic susceptibility profile of Group B Streptococcus acquired Vertically. **Obstet Gynecol** 1998; 92:931-4.

Schrag SJ, Zyuricki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB. et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. **N Engl J Med** 2000; 342:15-20.

Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craigas R. et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. **N Engl J Med** 2002; 347:233-9.

Schrag SJ. The past and future of perinatal group B streptococcal disease prevention. **Clin Infect Dis** 2004; 39:1136-8.

Schuchat A, Oxtoby M.; Cochi, S. Population-based risk factors for neonatal group B streptococcal disease: results of a cohort study in metropolitan Atlanta. **J Infect Dis** 1990; 162: 672-7.

Schuchat A, Deaver-Robinson K, Plikaytis BD. Multistate case control study of maternal risk factors for neonatal group B streptococcal disease. **Pediatr Infect Dis J** 1994; 13:623-9.

Schuchat A, Wenger JD. Epidemiology of group B streptococcal disease: risk factors, prevention strategies and vaccine development. **Epidemiol Rev** 1994; 16:374-402.

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

Share L, Chaikin S, Pomeranets S, Kiwi R, Jacobs M. Fanaroff AA. Implementation of Guidelines for Preventing Early Onset Group B Streptococcal Infection. **Semin Perinatol** 2001; 25:107-13.

Silveira DM; Arkader J, Schirmer J, Cecatti JG, Tedesco JT, Sorrentino SR. et al. **Gestação de alto risco**. 3^a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2000.

Silverman NS, Morgan M, Nichols WS. Antibiotic Resistance Patterns of Group B *Streptococcus* in Antenatal Genital Cultures. **J Reproduct Med** 2000; 45:979-82.

Simões JA, Aroutcheva AA, Heimler I, Faro S. Antibiotic Resistance Patterns of Group B Streptococcal Clinical Isolates. **Infect Dis Obstet Gynecol** 2004; 12:1-8.

Skov T, Deddens J, Petersen MR, Endahl L. Prevalence proportion ratios: estimation and hypothesis testing. **Int J Epidemiol** 1998; 27:91-5.

Smaill F. Intrapartum antibiotics for group B streptococcal colonization. In: **Cochrane Data base Syst Rev** 2000; CD000115.

Smaill F. Intrapartum antibiotics for group B streptococcal colonization (Cochrane Review). In: **Cochrane Library, Issue** 1, 2002. Oxford: update softwre.

Smaill F, Hofmeyr GJ. Antibiotic proflaxyfor cesarean section (COCHRANE Review). In: **Cochrane Library, Issue** 1, 2005. Oxford: update softwre.

Smânia Jr A, Benchetrit LC, Smânia EFA, Fracalanza SEL. Isolamento de estreptococos do grupo B, de gestantes e neonatos, em Florianópolis, Santa Catarina. **Rev Bras Anal Clin** 1986; 18:103-8.

Spellerberg B. Patogenesis of neonatal *Streptococcus agalactiae* infections. **Microbes Infect** 2000; 2:1733-42.

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

Torres MO, Sánchez-Pérez HJ, Nazar-Beutelspacher A, Castro-Ramírez A.E, Cordero-Ocampo B. Factores asociados a la colonización por *Streptococcus* del grupo B en mujeres embarazadas de Los Altos, Chiapas. **Salud Pública Méx** 2000; 42:1-15.

Toresani I, Limansky A, Bogado I, Guardati MC, Viale A, Sutich EG. et al. Phenotipic and genotipic study of *streptococcus agalactiae* in vagina of pregnant women in Argentina. **Medicina** 2001; 61:295-300.

Vaciloto E, Richtmann R, Costa HPF, Kusano EJU, Almeida MFB, Amdro ER. A survey of the incidence of neonatal sepsis by group B streptococcus during a decade in a Brazilian maternity hospital. **Braz J Infect Dis** 2002; 6:55-62.

Votava M, Tejkalová M, Drábková M, Unzeitig V, Braveny I. Use of GBS media for rapid detection of Group B Streptococci in vaginal and rectal swabs from women in labor. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis*** 2001; 20:120-2.

Weiss ME, Adkinson Jr NF. B-lactam allergy. In: Mandell BD. **Principles and Practice of infectious diseases**. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000. p.299-305.

Yancey MK, Schuchat A, Brow LK, Ventura VL, Markenson GR. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. ***Obstet Gynecol*** 1996; 88:811-4.

Zaleznik DF, Rench MA, Hillier S, Krohn MA, Platt R, Lee ML. et al. Invasive disease due to group B Streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. ***Clin Infect Dis*** 2000; 30:276-81.

Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. **Group B Streptococcal Disease in the United States, 1990: Report from a Multistate Active Surveillance System**. 1992; 41(SS-6):25-32.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a 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 2005).

9. Anexos

9.1. Anexo 1 – Ficha para coleta de dados

Data □□-□□-□□

Caso N^o□□□

Fatores de risco relacionados às DST

1. Idade |_|_| anos
2. Estado marital – [1] solteira [2] casada [3] outro
3. Cor – [1] branca [2] preta [3] parda [4] amarela
4. Escolaridade - [1] nenhuma [2] até primeiro grau
 [3] até segundo grau [4] superior
5. Ocupação profissional – [1] presente [2] ausente
6. Tabagismo – [1] presente [2] ausente
7. A senhora mora no sítio ou na cidade? – [1] cidade (urbana) [2] sítio (rural)
8. Quantos parceiros sexuais a senhora teve nos últimos seis meses antes de engravidar? |_|_|
9. A senhora teve corrimento vaginal durante a gravidez?
 [1] presente [2] ausente

Fatores de risco relacionados às complicações da gestação

10. Gesta |_|_| 11. Para |_|_|
12. IG (DUM) |_|_| 13. IG (1^o US) |_|_|
14. Antecedente de trabalho de parto prematuro – [1] presente [2] ausente

15. Antecedente de parto prematuro – [1] presente [2] ausente
16. Presença de amniorrexe - [1] presente [2] ausente
17. Antecedente de ITU nesta gestação – [1] presente [2] ausente
18. Febre – [1] presente [2] ausente
19. Fez uso de antibióticos nesta gestação – [1] sim [2] não
20. Presença de patologias imunossupressoras maternas – [1] presente [2] ausente
21. Antecedente de infecção neonatal pelo EGB em gestação anterior - [1] presente [2] ausente
22. Antecedente de óbito neonatal – [1] presente [2] ausente

EXAMES

23. Colonização pelo EGB – [1] presente [2] ausente
- 23^a. Sítio - [1] vaginal [2] anal [3] vaginal e anal
24. Sorotipo do EGB - [____]
25. Susceptibilidade do EGB aos antimicrobianos:
- | | sens | resist | interm | ign |
|---------------------|------|--------|--------|-----|
| [1] penicilina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [2] ampicilina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [3] clindamicina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [4] eritromicina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [5] gentamicina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [6] cefalexina | [1] | [2] | [3] | [9] |
| [7] nitrofurantoína | [1] | [2] | [3] | [9] |

Nome: _____ fone: _____ N° prontuário _____

Endereço: _____

9.2. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prevalência e Fatores Associados à Colonização Reto-Vaginal pelo *estreptococo do Grupo B e suas Características Fenotípicas*

Eu, _____, _____ anos,
RG _____, endereço _____
telefone _____ - _____, número do prontuário _____,
aceito colaborar como voluntária de um estudo, para saber se as grávidas de Jundiaí têm um tipo de bactéria na vagina. Sei que os resultados deste estudo não me trarão nenhum benefício agora, mas que poderão identificar as grávidas que têm mais chance de ter esse tipo de bactéria. Estou sabendo que através da análise desta bactéria será possível decidir qual a melhor maneira para evitar a presença dela na vagina, nas futuras vezes que eu ou outras mulheres engravidar. Desta forma, o bebê estará mais protegido contra esta infecção.

Sei que minha colaboração com o estudo consiste em fornecer dados pessoais e sexuais durante a consulta e deixar passar um cotonete estéril na minha vagina e anus durante o exame ginecológico, que é realizado de rotina neste serviço, na ocasião da minha internação.

Fui informada que este exame não será prejudicial e nem doloroso para mim e meu bebê. Fui também informada que caso eu não queira participar ou desista após ter concordado em participar, isso não prejudicará meu atendimento no hospital. Foi dito para mim que quando os resultados forem divulgados, não será mencionado meu nome.

Poderei esclarecer minhas dúvidas no Hospital Escola de Jundiaí, com a pesquisadora responsável, ou pelo telefone 9 (019) 3808-6456.

Paciente _____

(ou seu representante legal, RG: _____)

Residente responsável pelo atendimento: _____

Dra. Valéria Moraes Neder Alves: _____

(Pesquisadora responsável)

Jundiaí, _____ de _____ de 20_____. Comitê de Ética – fone: (19) 3788 8936.

9.3. Anexo 3 – Cultura, CAMP e Latex

Cultura, CAMP e Latex

Obtenção da amostra: *swab* com secreção vaginal em meio de Todd-Hewitt

Cultura: Swab

- Semear a secreção vaginal a partir do *swab* no caldo Todd-Hewitt, encubar e se houver crescimento (24 a 48 horas) semear em placa de ágar sangue (carneiro) e incubar em atmosfera de CO₂ (lata com vela) por 48 h a 35 °C.
- Fazer Gram das colônias β hemolíticas (colônias médias, cor de leite diluído e com halo de hemólise grande – nem todas as linhagens são hemolíticas)
- Fazer teste da catalase das colônias de cocos Gram positivos.

CATALASE - Repicar as colônias β hemolíticas de Cocos G + em BHI, incubar 35°C por 24/ 48 horas. Transferir 1 ml da cultura e adicionar ao novo tubo, 1 ml de H₂O₂ a 1 % fazer teste da catalase. Também é possível fazer teste direto da placa de ágar sangue, evitando levar partículas do ágar para não ocorrer falsos negativos.

Catalase negativo: não ocorre formação de bolhas – Gênero *Streptococcus*

Catalase positivo: formação de bolhas – Gênero *Staphylococcus* ou outros.

Se a colônia suspeita for catalase negativa, fazer a aglutinação

Identificação presuntiva de *Streptococcus* do grupo B (β hemolíticos ou não hemolíticos – *Strep. agalactiae*):

BACITRACINA - semear a amostra em ½ placa de Agar sangue (com swab) e testar sensibilidade à bacitracina (strepto B é resistente) e fazer teste de camp.

CAMP:

Na segunda metade da placa de Agar sangue semeada com a amostra suspeita, fazer uma linha perpendicular com uma cepa de *Staphylococcus aureus* camp + e incubar 24 horas em atmosfera normal (algumas linhagens de outros *Streptococcus* são camp positivos em anaerobiose ou CO₂).

Camp positivo: hemólise em forma de seta, na área próxima à linha de crescimento do *S. aureus*.

TESTE DE AGLUTINAÇÃO EM LÁTEX: Identificação de *Streptococcus* do grupo B (β hemolíticos ou não hemolíticos – *Strep. agalactiae*)

Kit utilizado *Slidex Strepto B* (marca bioMerieux – França)

Em tubo de hemólise, colocar 0,4 ml da enzima de extração

A partir de culturas puras em meio sólido (Agar sangue), coletar 2 a 3 colônias e emulsioná-las na enzima de extração.

Misturar em agitador tipo Vortex e incubar 10 a 15 minutos a 37°C.

Pingar em uma lâmina limpa, uma gota da suspensão de látex *Streptococcus* grupo B (suspensão de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos anti-estreptococcus grupo B). Ao lado desta gota, pingar 1 gota do extrato bacteriano (colônias expostas à enzima de extração). Misturar com um palito as duas gotas e efetuar movimentos rotativos com a lâmina por 2 minutos.

Resultado positivo: aparecimento de aglutinação das partículas de látex em até 2 minutos

Resultado negativo: ausência de aglutinação e suspensão homogênea

9.4. Anexo 4 – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



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@head.fcm.unicamp.br

CEP, 19/11/02
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 411/2002

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “PREVALÊNCIA, CARACTERÍSTICAS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A COLONIZAÇÃO RETO-VAGINAL DE PARTURIENTES PELO *ESTREPTOCOCO DO GRUPO B*”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Valeria Moraes Alves Neder

INSTITUIÇÃO: CAISM-UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 27/09/2002

II - OBJETIVOS

Estabelecer a prevalência da colonização pelo *Streptococo do Grupo B* no trato genital de parturientes, no Hospital de Clínicas Franco da Rocha, identificar os fatores associados a essa colonização e características fenotípicas destes estreptococos.

III - SUMÁRIO

Serão estudadas 323 parturientes do Hospital de Clínicas de Franco da Rocha. Será preenchido um protocolo com dados clínicos e coletados material com swab da região reto-vaginal para pesquisa de *Streptococo do Grupo B* através de cultura específica, no momento do exame ginecológico do parto, por residentes treinados do serviço. Serão incluídas todas as parturientes internadas neste serviço, com exceção daquela que tiverem usado antimicrobiano até duas semanas antes da internação. Metodologia adequada, assim como as condições para a realização do estudo.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Protocolo interessante, sem riscos ao paciente e sem uso de placebo, com benefícios epidemiológicos e avaliação da necessidade de prevenção de alguns pacientes. Termo de consentimento simples, de linguagem adequada e concisa. Trabalho tem um orçamento de R\$59.050,00 e não esclarece ajuda de custo.

Estudo clínico bastante interessante que deve apresentar, além das características epidemiológicas da região, a necessidade de programas de prevenção.

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 XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 19 de novembro de 2002.


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