

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS
INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**

PÂMELLA OLIVEIRA DUARTE

**IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli* E *Streptococcus*
agalactiae EM AMOSTRAS PLACENTÁRIAS DE GESTANTES A
TERMO COM E SEM SUSPEITA DE INFECÇÃO**

**CAMPO GRANDE
2015**

PÂMELLA OLIVEIRA DUARTE

**IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli* E *Streptococcus*
agalactiae EM AMOSTRAS PLACENTÁRIAS DE GESTANTES A
TERMO COM E SEM SUSPEITA DE INFECÇÃO**

Dissertação apresentada ao Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Doroty Mesquita Dourado

Co-orientadora: Dra. Gláucia Elisete Barbosa Marcon

**CAMPO GRANDE
2015**

FOLHA DE APROVAÇÃO

Pâmella Oliveira Duarte

IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli* E *Streptococcus agalactiae* EM AMOSTRAS PLACENTÁRIAS DE GESTANTES A TERMO COM E SEM SUSPEITA DE INFECÇÃO

Banca Examinadora

Prof^a. Dra. Doroty Mesquita Dourado

Dra. Anna Maria Duarte Miglioli

Dra. Zoraida Fernandez Grillo

Dra. Paula Cristhina Niz Xavier (Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho com amor a minha querida avó Lourdes com quem sempre compartilhei meus sonhos de infância e que deixou saudade ao partir tão cedo.

“Ainda tenho a impressão de que nada aconteceu e que a qualquer momento, não importa se aqui ou além retornaremos o trajeto interrompido pelo revés inesperado e estaremos de novo caminhando lado a lado!”

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela vida e pela força que sempre tem me proporcionado para buscar a sabedoria, entendimento, conhecimento, conselho e fortaleza.
- Aos meus familiares pelo incentivo nos momentos difíceis.
- Ao meu noivo que sempre me incentivou nessa longa jornada.
- A toda equipe do laboratório de Toxinologia e Plantas Medicinais que contribuíram para a realização desse projeto.
- Aos acadêmicos de medicina Rafael Osaki; Júlio Maksoud Brazuna e Caroline Ferzeli pela colaboração nas coletas.
- A técnica Ellen Juliet D. Capurro do laboratório de Microbiologia e Fitopatologia; a técnica Karen da Silva Santos do laboratório de Hidroquímica; ao técnico Paulo de Oliveira Osmar do laboratório de Microbiologia e Imunologia Humana da Universidade Anhanguera-Uniderp, pela colaboração.
- A Prof^ª. Dra. Edi Lúcia Sartorato; Dra. Sueli Matilde da Silva costa; Dr. Paulo Maurício do Amôr Divino Miranda; Prof. Dr. Baldomero Antonio Kato da Silva; Prof. Dr. Carlos Emílio Levy; Prof. Dr. Marcos Barbosa e Dra. Paula Cristhina Niz Xavier pelas contribuições.
- A Prof^ª. Dra. Doroty Mesquita Dourado – Anhanguera-Uniderp/UFMS, minha orientadora e a Dra. Gláucia Elisete Barbosa Marcon – FIOCRUZ, minha co-orientadora, que me orientaram sempre com muita dedicação e paciência.

Agradeço de coração a todos!

RESUMO

A infecção neonatal pode ser responsável por consequências graves ao recém-nascido, caracterizada no nascimento como sepse precoce ou sepse tardia, pela elevada taxa de morbi-mortalidade neonatal. Os agentes infecciosos bacterianos mais frequentes descritos são os estreptococos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus anginosus* e *Streptococcus pneumoniae*) e a *Escherichia coli*, cuja incidência ainda é pouco conhecida por não apresentar notificação compulsória e os exames diagnósticos apresentarem falhas para identificação bacteriana. O presente estudo objetivou identificar a presença da *Escherichia coli* e *Streptococcus agalactiae* no tecido placentário de gestantes a termo com e sem suspeita de infecção. A coleta das amostras placentárias foi realizada na Maternidade Cândido Mariano, Campo Grande/MS, no período de novembro de 2013 a maio de 2014. As amostras obtidas foram submetidas à extração de DNA, PCR (regiões conservadas dos genes rpoB/camada beta da RNA polimerase e fator 1 para *Streptococcus agalactiae*), eletroforese em gel de agarose, técnica de apoptose (coloração com alaranjado de acridina) e ao processo de preparo histológico (processamento e microtomia) para coloração pelo método de Hematoxilina - Eosina (HE). Das 100 amostras de tecido placentário analisadas pela PCR, 7% foram positivas para *Escherichia coli* e não houve amplificação para *Streptococcus agalactiae*. Na quantificação do índice apoptótico não houve resultado estatisticamente significativo entre os grupos avaliados. Pela análise histopatológica não foi observado infiltrado inflamatório, porém os cortes histológicos apresentaram necrose fibrinoide, áreas de infarto e áreas de calcificação. Com base nesses dados conclui-se que a positividade para *Escherichia coli* foi de 7% e esteve diretamente relacionada com fatores de riscos associados à sepse neonatal. A quantificação de apoptose realizada não demonstrou resultados estatisticamente significativos entre os grupos avaliados. Sugere-se que a diminuição de material fibrinoide foi em decorrência de mudanças fisiológicas placentárias influenciadas pela presença de fatores de riscos.

Palavras-chave: Sepse neonatal; Gestante; Placenta; Bactérias; PCR.

ABSTRACT

Neonatal infection may be responsible for serious consequences for the newborn, characterized at birth as early sepsis or late onset sepsis, a high rate of neonatal morbidity and mortality. The most common bacterial infectious agents are described streptococci (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus anginosus* and *Streptococcus pneumoniae*) and *Escherichia coli*, whose incidence is still poorly known for not presenting compulsory notification and diagnostic tests, are open to failures for bacterial identification. This study aimed to identify the presence of *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae* in the placental tissue of pregnant women at term with and without suspected infection. The collection of placental samples was performed at the Maternity Cândido Mariano, located in Campo Grande city Mato Grosso do Sul state (Brazil), from November 2013 to May 2014. The samples were subjected to DNA extraction, PCR (conserved regions of the rpoB / tier beta of RNA polymerase and factor one for *Streptococcus agalactiae*), agarose gel electrophoresis, apoptosis technique (staining with acridine orange) and procedure of histological preparation (processing and microtome) for staining with hematoxylin-eosin method (H&E). Of the 100 samples of placental tissue analysed by PCR, 7% were positive for *Escherichia coli* and no amplification for *Streptococcus agalactiae*. In quantifying the apoptotic index was not statistically significant result between these two groups. For the histopathological analysis was not observed inflammatory infiltrate, but the histological sections showed fibrinoid necrosis, infarct areas and areas of calcification. Based on these data it is concluded that the positive for *Escherichia coli* was 7% and was directly related to risk factors associated with neonatal sepsis. The quantification of apoptosis did not demonstrate statistically significant results between these two groups. It is suggested that the decrease of fibrinoid material was due to physiological changes placental influenced by the presence of risk factors.

Key-words: Neonatal sepsis; Pregnant women; Placenta; Bacteria.

SIMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

AgNO ₃	Nitrato de prata
BHI	Brain Heart Infusion
CDC	Center for Disease Control And Prevention
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxinucleotídeos Fosfatados
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EGB	Estreptococos do grupo B
<i>et al</i>	e colaboradores
EtBr	Brometo de Etídio
g	gramas
HE	Hematoxilina-Eosina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
H ₂ O	Água
IA	Índice apoptótico
ITU	Infecção do trato urinário
M	Mol
Min.	minutos
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
NaOH	Hidróxido de sódio
μl	microlitros
μm	micrometro
pb	Pares de base
PBS	phosphate buffered saline
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
Primer F	Primer Forward
Primer R	Primer Reverse
PN	Pré-natal
RN	Recém-nascido
RPM	Rotação por minuto
rTNF	Fator de necrose tumoral

<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
TAE	Tris-Borato-EDTA
TBE	Tris-Borato-EDTA
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UPC	Uropatogênica
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Distribuição em porcentagem das pacientes que apresentaram fatores de risco associados à infecção neonatal.....**30**

Figura 1. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para a bactéria *Escherichia coli* das amostras 60, 61, 62, 65, 66, 68, 69.....**31**

Figura 2. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108.....**32**

Figura 3. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8....**32**

Figura 4. Fotomicrografia de placenta humana a termo corada com Hematoxilina-Eosina (HE) evidenciando, (A) necrose fibrinóide, (B) áreas de infarto, (C) calcificação, (400X).....**33**

Figura 5. Comparação da quantificação de necrose fibrinóide entre os grupos avaliados considerando-se a existência de fator de risco.....**33**

Figura 6. Comparação da quantificação de áreas de infarto entre os grupos avaliados considerando-se a existência de fator de risco.....**34**

Figura 7. Comparação da quantificação de áreas de calcificação entre os grupos avaliados considerando-se a existência de fator de risco.....**34**

Figura 8. Fotomicrografia de placenta humana a termo corada com alaranjado de acridina evidenciando: (A) célula em apoptose, (B) célula normal (400X).....**35**

Figura 9. Comparação da quantificação de apoptose entre os grupos avaliados considerando-se a existência de fator de risco.....**35**

Figura 10. Comparação da quantificação de apoptose entre os grupos avaliados considerando-se a ocorrência de infecção de trato urinário (ITU), acompanhamento pré-natal e a via de parto.....**36**

Figura D1. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para β -globina das amostras 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16.....**49**

Figura D2. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para β -globina das amostras 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 88, 89.....**49**

Figura D3. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para β -globina das amostras 96, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 44, 107, 108.....**50**

Figura D4. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para β -globina das amostras 48, 49, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 90, 91, 92, 93.....**50**

Figura D5. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a positividade para β -globina das amostras 30, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 43, 46, 47, 87, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106.....**50**

Figura E1. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Escherichia coli* das amostras 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16.....**51**

Figura E2. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Escherichia coli* das amostras 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85.....**51**

Figura E3. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Escherichia coli* das amostras 49, 50, 51, 52, 86, 88, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22.....**51**

Figura E4. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Escherichia coli* das amostras 23, 24, 25, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 54, 55, 56, 57, 58.....**52**

Figura E5. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Escherichia coli* das amostras 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108.....**52**

Figura F1. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 29, 30, 31.....**53**

Figura F2. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 43, 44, 46.....**53**

Figura F3. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60.....**54**

Figura F4. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86.....**54**

Figura F5. Gel de agarose 1,5% corado com Brometo de Etídeo mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99.....**54**

Figura G1. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16.....**55**

Figura G2. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23.....**55**

Figura G3. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 24, 25, 29, 30, 31, 32, 33.....**56**

Figura G4. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41.....**56**

Figura G5. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49.....**56**

Figura G6. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 50, 51, 52, 54, 55, 56, 57.....**57**

Figura G7. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64.....**57**

Figura G8. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71.....**57**

Figura G9. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78.....**58**

Figura G10. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85.....**58**

Figura G11. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92.....**58**

Figura G12. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99.....**59**

Figura G13. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106.....**59**

Figura G14. Gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata mostrando a negatividade para *Streptococcus agalactiae* das amostras 107, 108.....**59**

.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2. 1 Agentes etiológicos.....	18
2. 1. 1 <i>Estreptococos</i>	19
2. 1. 2 <i>Escherichia coli</i>	20
2. 2 Gene rpoB.....	21
2. 3 Apoptose.....	21
2. 4 Necrose fibrinoide.....	23
3 OBJETIVOS	24
3. 1 Objetivo geral	24
3. 2 Objetivos específicos.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4. 1 Local da pesquisa e população de estudo.....	25
4. 2 Coleta de dados.....	25
4. 3 Critérios de inclusão.....	25
4. 4 Critério de exclusão.....	26
4. 5 Grupo-controle.....	26
4. 6 Obtenção dos controles positivos para as bactérias <i>Escherichia coli</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i>	26
4. 7 Desenho e síntese dos <i>primers</i>	27
4. 8 Extração de DNA genômico e PCR.....	27
4. 9 Identificação de apoptose.....	28
4. 10 Análise histopatológica.....	29
4. 11 Análise estatística.....	29
4. 12 Aspectos éticos da pesquisa.....	29
5. RESULTADOS.....	30
5. 1 Fatores de risco associados à infecção.....	30
5. 2 Análise molecular para β -globina.....	31
5. 3 Análise molecular para <i>Escherichia coli</i>	31

5. 4 Análise molecular para <i>Streptococcus agalactiae</i>.....	32
5. 5 Análise histopatológica.....	33
5. 6 Análise do Índice apoptótico.....	34
6. DISCUSSÃO.....	36
6.1 Fatores de risco e análise molecular.....	36
6.2 Índice apoptótico.....	37
6.3 Histopatologia.....	38
7. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40
APÊNDICES.....	46
ANEXOS.....	60

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde**. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Brasília, v. 9, p. 149, 2013.

AUSTGULEN, R.; CHEDWICK, L.; ISAKSEN, C. V.; VATTEN, L.; CRAVEN, C. Trophoblast Apoptosis in Human Placenta at Term as Detected by Expression of a Cytokeratin 18 Degradation Product of Caspase. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 126, n. 12, p. 1480-1486. Dec. 2002.

BAUER, H. M.; TING, Y.; GREER, C. E.; CHAMBERS, J. C.; TASHIRO, C. J.; CHIMERA, J.; REINGOLD, A.; MANOS, M. M. Genital Human Papillomavirus Infection in Female University Students as Determined by a PCR-Based Method. **The Journal of the American Medical Association**, v. 265, n. 4, p. 472-477. June. 1991.

BELKACEMI, L.; CHEN, C. H.; ROSS, M. G.; DESAI, M. Increased placental apoptosis in maternal food restricted gestations: role of the fas pathway. **Placenta**, v. 30, n. 9, p. 739-751. Sept. 2009.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E.; CHARNOCK-JONES, S. D. The influence of the intrauterine environment on human placental development. **International Journal of Developmental Biology**, v. 54, n. 2, p. 303-311. Sept. 2010.

CDC. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 59, n. RR-10, p. 1-31. Nov. 2010.

CECCON, M. E. J.; FEFERBAUM, R.; GIOLO, C. R.; VIEIRA, R. A.; DINIZ, E. M. A.; KREBS, V. J.; ARAUJO, M. C. K.; GALVANI, A. L. S.; VAZ, F. A. C. Sepsis neonatal - análise comparativa entre duas décadas (1977-1987 e 1988-1998) em relação à incidência dos agentes etiológicos e da morbimortalidade. **Pediatrics**, v. 21, n. 4, p. 287-297. Mar. 1999.

CHARNOCK- JONES, S. D.; KAUFMANN, P.; MAYHEW, T. M. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation. **Placenta**, v. 25, n. 2-3, p. 103-113. Feb./ Mar. 2004.

CHATTOPADHYAY, B. Fatal neonatal meningitis due to Group B streptococci. **Postgraduate Medical Journal**, v. 51, n. 594, p. 240-243. Apr. 1975.

CHEN, K. T.; RINGER, S.; COHEN, A. P.; LIEBERMAN, E. The role of intrapartum fever in identifying asymptomatic term neonates with early-onset neonatal sepsis. **Journal Perinatology**, v. 22, n. 8, p. 653-657. Dec. 2002.

CHEN, V. L.; AVCI, F. Y.; KASPER, D. L. A maternal vaccine against Group B Streptococcus: Past, Present, and Future. **Vaccine**, v. 31, n. 4, p. 13-19. Aug. 2013.

DAHLLÖF, I.; BAILLIE, H.; KJELLEBERG, S. rpoB-Based Microbial Community Analysis Avoids Limitations Inherent in 16S rRNA Gene Intraspecies Heterogeneity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 3376-3380. Aug. 2000.

DELORME-AXFORD, E.; SADOVSKY, Y.; COYNE, C. B. The Placenta as a Barrier to Viral Infections. **Annual Review of Virology**, v. 1, p. 133–146. Jan. 2014.

DUARTE, G.; MARCOLIN, A. C.; QUINTANA, S. M. CAVALLI, R. C. Infecção urinária na gravidez. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 2, p. 93-100. Mar. 2008.

FACKLAM, R. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 4, p. 613–630. Oct. 2002.

FOX, H. Fibrinoid necrosis of placental villi. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 75, n. 4, p. 448-452. Apr. 1968.

GHEORGHE, C. P.; GOYAL, R.; MITTAL, A.; LONGO, L. D. Gene Expression in the Placenta: Maternal Stress and Epigenetic Responses. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 54, n. 2-3, p. 507–523. Jan. 2011.

GONG, J. S.; KIM, G. J. The role of autophagy in the placenta as a regulator of cell death. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**, v. 3, n. 41, p. 97-107. Sept. 2014.

GOULART, A. P.; VALLE, C. F.; DAL-PIZZOL, F.; CANCELIER, A. C. L. Fatores de Risco para o Desenvolvimento de Seps Neonatal Precoce em Hospital da Rede Pública do Brasil. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 2, p. 148-153. Apr/June. 2006.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335-343. Jan. 2007.

GUDE, N. M.; ROBERTS, C. T.; KALIONIS, B.; KING, R. G. Growth and function of the normal human placenta. **Thrombosis Research**, v. 114, n. 5-6, p. 397-407. July. 2004.

HERRMANN, D. M. M. L.; AMARAL, L. M. B.; ALMEIDA, S. C. Fatores de Risco para o Desenvolvimento de Seps Neonatal Tardia em uma Unidade de Terapia Intensiva. **Pediatria**, v. 30, n. 4, p. 228-236. Aug. 2008.

HICKMAN, M. E.; RENCH, M. A.; FERRIERI, P.; BAKER, C. J. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. **Pediatrics**, v. 104, n. 2, p. 203–209. Aug. 1999.

JACOCIUNAS, L. V.; PICOLI, S. U. Avaliação de Infecção Urinária em Gestantes no Primeiro Trimestre de Gravidez. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 1, p. 55-57. Dec. 2007.

JOLIVET, R. R. Early-onset neonatal group B streptococcal infection: 2002 guidelines for prevention. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 47, n. 6, p. 435- 446. Nov./Dec. 2002.

KASPER, D. C.; ALTIOK, I.; MECHTLER, T. P.; BOHM, J.; STRAUB, J.; LANGGARTNER, M.; POLLAK, A.; HERKNER, K. R.; BERGER, A. Molecular Detection of Late-Onset Neonatal Sepsis in Premature Infants Using Small Blood Volumes: Proof-of-Concept. **Neonatology**, v. 103, n. 4, p. 268–273. Mar. 2013.

KAUFMANN, P.; HUPPERTZ, B.; FRANK, H. The fibrinoids of the human placenta: origin, composition and functional relevance. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 178, n. 6, p. 485-501. Dec. 1996.

KAWAMURA, Y.; HOU, X. G.; SULTANA, F.; MIURA, H.; EZAKI, T. Determination of 16S rRNA Sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and Phylogenetic Relationships among Members of the Genus *Streptococcus*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 2, p. 406-408. Apr. 1995.

KOTGIRWAR, S.; AMBIYE, M.; ATHAVALE, S.; GUPTA, V.; TRIVEDI, S. Study of Gross and Histological Features of Placenta in Intrauterine Growth Retardation. **Journal of the Anatomical Society of India**, v. 60, n. 1, p. 37-40. 2011.

LABARRERE, C. A.; FAULK, W. P. Factor VIII procoagulant: a marker of fibrinoid necrosis in normal term human placentae. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 19, n. 2, p. 167-177. Feb. 1991.

LAJOS, G. J.; JUNIOR, R. P.; NOMURA, M. L.; AMARAL, E.; PEREIRA, B. G.; MILANEZ, H.; PARPINELLI, M. A.; Colonização bacteriana do canal cervical em gestantes com trabalho de parto prematuro ou ruptura prematura de membranas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 8, p. 393-9. Aug. 2008.

LINHARES, L. Q.; MACHADO, L. R. G.; GUIMARÃES, L. C.; AZEVEDO, L. M. M.; COSTA, M. A. B.; PEDROSO, M. A.; TARTAGLIA, R.; ROSSE, S. Placenta acreta. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 20, n. 2, p. 57-59. Jan. 2010.

MAURO, M. O.; SARTORI, D.; OLIVEIRA, R. J.; ISHII, P. L.; MANTOVANI, M. S.; RIBEIRO, L. R. Activity of selenium on cell proliferation, cytotoxicity, and apoptosis and on the expression of CASP9, BCL-XL and APC in intestinal adenocarcinoma cells. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 715, n. 1-2, p. 7-12. June. 2011.

MIGLIOLI, A. M. D. **PCR Multiplex para o Diagnóstico Precoce de ESTREPTOCOCOS E *Escherichia coli* no Sangue de Cordão Umbilical e Placenta na Hipótese de Infecção Neonatal**. Dissertação (Mestrado em Medicina/ Área de concentração: Pediatria) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campo Grande/ MS, 2003.

MIRANDA, M. M. S.; SOUZA, L. M. G.; AGUIAR, R. A. L. P.; CORRÊA JR, M. D.; MAIA, M. M. M.; BORGES, R. S.; MELO, V. H. Rastreamento das infecções perinatais na gravidez: realizar ou não?. **FEMINA**, v. 40, n. 1, p. 14-22. Jan/Feb. 2012.

MIURA, E.; SILVEIRA, R. C.; PROCIANOY, R. S. Seps neonatal: diagnostico e tratamento. **Jornal de Pediatria**, v. 75, n. 1, p. 57-62. Jan. 1999.

MOLLET, C.; DRANCOURT, M.; RAOULT, D. rpoB sequence analysis as a novel basis for bacterial identification. **Molecular Microbiology**, v. 26, n. 5, p. 1005-1011. Sept. 1997.

MUSSI-PINHATA, M. M.; YAMAMOTO, A. Y. Infecções congêntas e perinatais. **Jornal de Pediatria**, v. 75, n. 1, p. 15-30. 1999.

NAKATA, N.; KAI, M.; MAKINO, M. Mutation Analysis of Mycobacterial rpoB Genes and Rifampin Resistance Using Recombinant Mycobacterium smegmatis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 4, p. 2008-2013. April. 2012.

NARAVA, S.; RAJARAM, G.; RAMADEVI, A.; PRAKASH, G. V.; MACKENZIE, S. Prevention of perinatal group B streptococcal infections: a review with an Indian perspective. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 6-12. Jan./Mar. 2014.

NEALE, D. M.; MOR, G. The role of Fas mediated apoptosis in preeclampsia. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 33, n. 6, p. 471-477. Dec. 2005.

ODDIE, S.; EMBLETON, N. D. Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study. **British Medical Journal**, v. 325, n. 7359, p. 308. Aug. 2002.

PAOLETTI, L. C.; KASPER, D. L. Glycoconjugate vaccines to prevent group B streptococcal infections. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 3, n. 6, p. 975–984. Sept. 2003.

PAROLIN, M. B.; REASON, I. J. M.; Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 38, n. 2, p. 138-144. June. 2001.

PERROTTI, M. R. M.; CECATTI, J. G.; FILHO, M. B.; ANDRADE, K. C. Evolução das Características Ecográficas da Placenta, da Posição e da Apresentação Fetal em Gestações Normais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 21, n. 9, p. 499-504. Oct. 1999.

QUEIROZ, A. P. S.; COSTA, C. F. F. Amadurecimento precoce da placenta avaliada pela ultra-sonografia e prognóstico perinatal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 3, p. 165-170. Mar. 2006.

ROVOZZO, G. C, BURKE, C. N. A manual of basic virological techniques. **Prentice Hall**, New Jersey. p. 159. Feb. 1973.

SAIKI, R. K.; SCHARF, S.; FALOONA, F.; MULLIS, K. B.; HORN, G. T.; ERLICH, H. A.; ARNHEIM, N. Enzymatic Amplification of β -Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sick Cell Anemia. **Science**, v. 230, n. 4732, p. 1350–1354. Dec. 1985.

SALA, M. A.; MATHEUS, M.; VALERI, V.; LOPES, R. A. Ultraestructura del Fibrinoide Velloso en la Placenta Humana de Terminio. **Revista chilena de anatomía**, v. 15, n. 1, p. 71-77. May. 1997.

SCHRAG, S.; GORWITZ, R.; FULTZ-BUTTS, K.; SCHUCHAT, A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. **MMWR Recommendations and Reports**, v. 51, n. 11, p. 1-22. Aug. 2002.

SHANE, A. L.; STOLL, B. J. Neonatal sepsis: Progress towards improved outcomes. **Journal of Infection**, v. 68, n. 1, p. 24-32. Oct. 2014.

SHARP, A. N.; HEAZELL, A. E. P.; CROCKER, I. P.; MOR, G. Placental Apoptosis in Health and Disease. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 64, n. 3, p. 159-169. Mar. 2011.

SHULMAN, S. T.; FRIEDMANN, H. C.; SIMS, R. H. Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician?. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 8, p. 1025-1029. July. 2007.

SILVEIRA, R. C.; PROCIANOY, R. S. Uma revisão atual sobre sepse neonatal. **Boletim Científico de Pediatria**, v. 1, n. 1, p. 29-35. Jun. 2011.

SOUZA, D. A.; BEZERRA, A. F. S.; WANDERLEY, D. C.; SOUTO, C. M. B. Aumento no material fibrinoide perivilositário nas placentas de gestações com pré-eclâmpsia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 1, p. 71-77. Feb. 2011.

STOLL, B. J.; HANSEN, N. I.; SÁNCHEZ, P. J.; FAIX, R. G.; POINDEXTER, B. B.; MEURS, K. P. V.; BIZZARRO, M. J.; GOLDBERG, R. N.; FRANTZ III, I. D.; HALE, E. C.; SHANKARAN, S.; KENNEDY, K.; CARLO, W. A.; WATTERBERG, K. L.; BELL, E. F.; WALSH, M. C.; SCHIBLER, K.; LAPTOOK, A. R.; SHANE, A. L.; SCHRAG, S. J.; DAS, A.; HIGGINS, R. D.; SHRIVER, E. K. Early Onset Neonatal Sepsis: The Burden of Group B Streptococcal and *E. coli* Disease Continues. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**, v. 127, n. 5, p. 817- 826. May. 2011.

TETTELIN, H.; MASIGNANI, V.; CIESLEWICZ, M. J.; EISEN, J. A.; PETERSON, S.; WESSELS, M. R.; PAULSEN, I. T.; NELSON, K. E.; MARGARIT, I.; READ, T. D.; MADOFF, L. C.; WOLF, A. M.; BEANAN, M. J.; BRINKAC, L. M.; DAUGHERTY, S. C.; DEBOY, R. T.; DURKIN, A. S.; KOLONAY, J. F.; MADUPU, R.; LEWIS, M. R.; RADUNE, D.; FEDOROVA, N. B.; SCANLAN, D.; KHOURI, H.; MULLIGAN, S.; CARTY, H. A.; CLINE, R. T.; AKEN, S. E. V.; GILL, J.; SCARSELLI, M.; MORA, M.; IACOBINI, E. T.; BRETTONI, C.; GALLI, G.; MARIANI, M.; VEGNI, F.; MAIONE, D.; RINAUDO, D.; RAPPUOLI, R.; TELFORD, J. L.; KASPER, D. L.; GRANDI, G.; FRASER, C. M. Complete genome sequence and comparative genomic analysis of an emerging human pathogen, serotype V *Streptococcus agalactiae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 99, n. 19, p. 12391–12396. Sept. 2002.

THOMPSON, C. B. Apoptosis. **Fundamental immunology**. 4. ed. Philadelphia, 1999.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (ORG.). **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

WEI, D.; WU, Q.; SHI, H. Apoptosis and p53 expression in the placental villi of females with unexplained recurrent spontaneous abortion. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 7, n. 1, p. 191-194. Jan. 2014.