

# A PERTINÊNCIA DO *LACTOBACILLUS SP* NA FLORA VAGINAL DURANTE O TRABALHO DE PARTO PREMATURO

## *LACK OF LACTOBACILLUS SP IN THE VAGINAL FLORA DURING THE LABOR OF WOMEN ENDING IN PRETERM DELIVERIES*

Paulo César Giraldo,<sup>1</sup> Ana Maria D Fachini,<sup>2</sup> Renata TG Pereira,<sup>3</sup> Silvio Pereira,<sup>4</sup> Angela Von Nowakonski,<sup>5</sup> Mauro Romero L Passos<sup>6</sup>

### RESUMO

**Introdução:** Pouco ou nada foi investigado sobre a associação entre trabalho de parto prematuro (TPP) e vaginose bacteriana (VB) no momento do trabalho de parto. Mais relevante do que a presença da BV talvez seja a presença de flora vaginal lactobacilar protetora. **Objetivo:** quantificar e comparar a presença de flora vaginal anormal e da VB em mulheres com TPP e a termo instaurados. **Métodos:** gestantes em TPP confirmado foram convidadas a participar do estudo, que coletou amostras de conteúdo vaginal para análise microbiológica. Apenas as pacientes internadas para inibição do trabalho de parto foram aceitas. Qualquer gestante em trabalho de parto a termo subsequente ao caso índice foi convidada a constituir o grupo controle. Colheu-se material vaginal que foi disposto em duas lâminas de vidro e analisado sob microscopia óptica. **Resultados:** flora anormal (Tipo 3) foi encontrada em 28 mulheres (24,5%), sendo que 18 (34,61%) pertenciam ao grupo TPP e apenas 10 (16,1%) ao grupo trabalho de parto a termo (TPT),  $p=0,02$ . A VB esteve presente em 13 mulheres (11,4%), sendo 9 (17,3%) entre os TPP e apenas 4 (6,4%) dos casos de TPT (ns). Cento e quatro mulheres evoluíram para parto e 10 ainda estão em evolução da gestação ou tiveram partos em outra instituição. **Conclusão:** existe forte associação entre falta de *Lactobacillus sp.* e TPP quando o diagnóstico é realizado durante o trabalho de parto. A VB foi 2,7 vezes mais freqüente nos casos de TPP quando comparada aos casos de TPT.

**Palavras-Chave:** vaginose bacteriana, flora vaginal, trabalho de parto prematuro, *Lactobacillus sp.*, vulvovaginites.

### ABSTRACT

**Introduction:** Little or nothing has been investigated about the association between preterm labor (PTL) and bacterial vaginosis (BV) during the moment of labor. More relevant than the presence of BV might be the presence of the protective *Lactobacillus sp* in the vaginal flora. **Objective:** to quantify and compare the presence of the *Lactobacillus sp.* and BV in women in PTL. **Methods:** pregnant women in confirmed PTL were sampled in order to obtain vaginal content for microbiologic analysis. Only patients hospitalised to inhibit labor were accepted in the study. Any other pregnant woman undergoing term labor makes up the control group. Vaginal content was collected and placed on two glass slides for microbiologic analysis under optic microscopy. **Results:** abnormal flora (type 3) was found in 28 women from the total amount of studied cases (24.5%), where 18 (34.61%) belonged to the PTL group and only 10 (16.1%) to the term labor (TL),  $p=0.02$ . BV was present in 13 women of the total (11.4%), being 9 (17.3%) among the PTL group and only 4 (6.4%) from TL group (ns). One hundred and four women delivered and 10 are still pregnant or gave birth in other institutions. **Conclusion:** there is a strong association between the lack of *Lactobacillus sp* and TPP when the diagnoses are done during the labor. BV was 2.7 times more frequent in the cases of PTL when compared to TL.

**Keywords:** bacterial vaginosis, vaginal flora, preterm labor, *Lactobacillus sp.*, vulvovaginitis.

ISSN: 0103-0465

*DST – J bras Doenças Sex Transm 18(3): 200-203, 2006*

## INTRODUÇÃO

É do conhecimento geral que a gravidez exerce uma grande influência no pH vaginal e no equilíbrio desse ecossistema. Por modificações próprias do organismo materno, observa-se aumento do fluxo sanguíneo, da temperatura, da produção de proteínas locais e da produção de anticorpos (principalmente IgA secretória) na região vulvovaginal e perineal. Todas estas modificações vi-

sam proteger o útero, a gravidez e o organismo materno contra a ascensão de microorganismos cervicovaginais à cavidade amniótica. Por outro lado, a imunomodulação que também ocorre neste período, apesar de favorecer a aceitação no organismo materno de proteínas estranhas (feto), poderá predispor a mulher a uma maior suscetibilidade

A vagina é habitada por numerosas bactérias de espécies diferentes, que vivem em harmonia e que, por isso, são consideradas comensais, mas que podem, em situações especiais, tornar-se patogênicas. O *Lactobacillus sp.* é a espécie bacteriana predominante no meio vaginal, determinando um pH ácido (3,8 a 4,5) que inibe o crescimento de várias outras bactérias potencialmente nocivas à mucosa vaginal.<sup>1</sup> Parâmetros como: concentrações adequadas de lactato, succinato, interleucina 1Beta, Interleucina 8, fator inibidor de leucócitos e receptores agonistas de interleucina 1, já foram associados favoravelmente com microbiota vaginal onde

<sup>1</sup>Professor Associado Livre-Docente do Departamento de Tocoginecologia da FCM/UNICAMP Chefe do Ambulatório de Infecções Genitais.

<sup>2</sup>Graduada de Medicina.

<sup>3</sup>Enfermeira do Pronto Atendimento do CAISM/UNICAMP.

<sup>4</sup>Cirurgião dentista especialista em periodontologia, doutor Departamento de Tocoginecologia/UNICAMP, professor de pós-graduação da Faculdade São Leopoldo Mandic.

<sup>5</sup>Médica microbiologista contratada do Departamento de Microbiologia do HC/UNICAMP.

<sup>6</sup>Professor associado do departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense.

há predomínio de *Lactobacillus sp.* (Flora Tipo I).<sup>1</sup> Por outro lado, o conteúdo vaginal, no qual existe ausência ou baixa concentração de *Lactobacillus sp.* (Flora Tipo 3), associa-se significativamente a processos patogênicos, como a doença inflamatória pélvica, infecção pós-cirúrgica e às corioamnionites.<sup>2,3</sup>

A microbiota que habita a vagina tem um papel importante na eclosão de doenças (vaginose bacterianas, vaginose citolíticas e doenças sexualmente transmissíveis),<sup>4,5</sup> assim como na manutenção de um trato genital saudável. Além disso, o conteúdo vaginal tem atividade seletiva antimicrobiana contra espécies bacterianas não residentes. Este controle é mediado por ácido láctico, pH baixo e polipeptídeos antimicrobiais. Estudos clínicos têm demonstrado uma associação entre a presença de *Lactobacillus sp.* produtores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o decréscimo da prevalência da gonorréia, vaginose bacteriana e da contaminação pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).<sup>6,7,8,9,10</sup>

A proporcionalidade entre os *Lactobacillus sp.* e os outros microrganismos presentes determina o tipo de microbiota vaginal, a saber três. Flora Tipo 1, quando no conteúdo vaginal existem 80% ou mais de *Lactobacillus sp.* Na Flora Tipo 2 existe uma proporção aproximada de 50% de *Lactobacillus sp.* e 50% de outras bactérias. Quando há um predomínio claro de outras bactérias e queda acentuada do número de *Lactobacillus sp.* (< 5%), a microbiota vaginal será chamada de Tipo 3.<sup>1,11</sup>

Tendo em vista a importância do equilíbrio do meio vaginal, da presença dos *Lactobacillus sp.* e também de uma população bacteriana que não seja potencialmente causadora de doenças intra-uterinas ou que afetem o recém nascido durante a passagem no canal de parto, seria interessante verificar as condições da microbiota vaginal durante o trabalho de parto instalado. Várias publicações já analisaram esse aspecto durante o período gestacional,<sup>12,13,14,15,16</sup> mas poucas relataram as alterações microbianas vaginais no estágio inicial do trabalho de parto efetivamente instalado. Importante consideração deve ser feita a respeito do tratamento da vaginose bacteriana (VB) com antibióticos, que não garantem sucesso terapêutico, sendo muito comum as recorrências da doença.

BV é uma doença bem conhecida causada por um aumento de bactérias anaeróbias, escassez de *Lactobacillus sp.* e muito poucos leucócitos.<sup>7</sup> Contudo, o diagnóstico de VB, seja pelos critérios de Spiegel, Nugent ou mesmo por critérios de Amsel, é muito rigoroso e identifica menos casos anormais que o achado simples de microbiota vaginal tipo três (ausência de lactobacilos). Este fato acaba eliminando muitos casos que poderiam ser importantes para a compreensão do processo desencadeador do TPP.

Em vez de se diagnosticar VB durante o período gestacional e no momento do trabalho de parto, talvez fosse melhor verificar a ausência de *Lactobacillus sp.* nesses períodos.

## OBJETIVO

Verificar se existe associação entre a microbiota vaginal anormal (ausência de lactobacilos) e o trabalho de parto pré-termo.

## MÉTODOS

Todas as gestantes em trabalho de parto prematuro (TPP) (<37 semanas) confirmado por data da última menstruação e por ecografia de primeiro trimestre, atendidas no serviço de Pronto

Atendimento do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM)/UNICAMP, foram convidadas a participar do estudo. No período de 18 meses foram coletadas amostras de conteúdo vaginal e acompanhado o desfecho do parto. O trabalho de parto foi confirmado na presença de duas ou mais contrações uterinas em dez minutos por pelo menos duas horas de evolução. Apenas as pacientes internadas para inibição do trabalho de parto e sem qualquer condição reconhecidamente desencadeadora de TPP (polidrâmnio, hipertensão arterial moderada ou severa, diabetes mellitus, gemelaridade etc) foram aceitas para o estudo. O grupo controle foi constituído recrutando-se a subsequente gestante em trabalho de parto a termo que, nas mesmas condições descritas para o grupo estudo, dessa entrada no hospital até 24 horas após o caso índice.

As pacientes, que espontaneamente concordaram em colaborar com o estudo, foram informadas a respeito dos procedimentos e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. A coleta do material vaginal foi feita com *swab* de Dacron e disposto em duas lâminas (duplicata) de vidro adequadamente identificadas com iniciais e registro. Após secar ao ar livre, as lâminas foram acondicionadas em duas caixas apropriadas de madeira e guardadas em locais diferentes para evitar quebras, perdas e extravios. O material foi corado por técnica tintorial de Gram e analisado à medida do ingresso dos casos, tendo passado por uma segunda análise de checagem com microbiologista do serviço de patologia clínica. Os dados clínicos das gestantes, os dados do parto e do recém-nascido (RN) foram relacionados em ficha própria e arquivados em planilha de programa Excel. Conseguiu-se a inibição do TPP em alguns casos, obtendo-se a resolução do mesmo após as 37 semanas de evolução. A análise microbiológica visou à caracterização da microbiota vaginal, tendo sido usado os critérios de Nugent<sup>17</sup> para o diagnóstico da vaginose bacteriana.

O projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. A análise estatística usou os testes de Exato de Fisher ou X<sup>2</sup> para variáveis discretas e de Mann Whitney para a análise das variáveis não-paramétricas.

## RESULTADOS

Concluíram o estudo, 52 mulheres que entraram em trabalho de parto pré-termo e outras 62 com 37 ou mais semanas, confirmadas por data de última menstruação e ecografia precoce. O diagnóstico de flora anormal (Tipo 3) foi encontrado em 28 mulheres do total estudado (24,5%), sendo que 18 pertenciam aos 52 casos de TPP (34,61%) e apenas 10 dos 62 casos de trabalho de parto a termo (TPT) (16,1%), p=0,02. A vaginose bacteriana, segundo os critérios de Nugent, esteve presente em 13 mulheres do total (11,4%), sendo que 9 (17,3%) estavam entre os TPP e apenas 4 (6,4%) dos casos de TPT (ns) (Tabela 2). Cento e quatro mulheres evoluíram para parto e 10 ainda estão em evolução da gestação ou tiveram seus partos em outra instituição. Encontraram 23 casos (22,1%) de flora vaginal anormal neste grupo sendo 10 (38,4%) entre os partos prematuros e 13 (16,6%) entre os que nasceram a termo (p= 0,02). A vaginose bacteriana esteve presente em 11 dos 104 partos (10,5%), dos quais 15,3% estavam entre os prematuros e apenas 8,9% dos casos a termo (ns) (Tabela 3).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto à idade, cor não-branca, abortamentos anteriores, escolaridade maior do que ensino fundamental, presença de bolsa amniótica rota e história anterior de TPP. Dentre as pacientes que entraram em trabalho de parto prematuro encontrou-se um número significativamente menor de casos de primigestas ( $p=0,02$ ) e de parceiros sexuais eventuais ( $p=0,008$ ) que entre aquelas com trabalho de parto a termo (**Tabela 1**).

## DISCUSSÃO

Apesar de todos os esforços e evolução da medicina moderna, as taxas de prematuridade e baixo peso nos serviços de atenção à gestante continuam extremamente elevadas, chegando a quase de 12%. O TPP é, sem dúvida alguma, o responsável por muitos casos de prematuridade sem causa aparente. A associação entre TPP e VB, em função da relevância social, orgânica e econômica do tema, vem sendo exaustivamente estudada durante o período gestacional, sem ser conclusiva até o momento.<sup>18,19</sup> Após um tratamento regular, espera-se até cinco semanas para que a microbiota vaginal se normalize. É muito improvável que, tratando a VB, 100% das pacientes obtenham cura, fazendo-nos supor que a VB pode estar presente em muitas mulheres no momento do trabalho de parto. Os achados deste trabalho, identificando altas taxas de VB (17,3%) e de microbiota vaginal anormal tipo 3 (34,6%) em mulheres que entraram em trabalho de parto prematuro, sugerem que mesmo tratando-se a VB aos moldes preconizados, em muitos casos, ela pode persistir ou mesmo recrudescer durante as semanas subsequentes ao tratamento.<sup>20,21,22,23</sup> Este fato talvez possa explicar por que o uso de antibióticos de largo espectro não reduz as taxas de prematuridade nos berçários. A cura clínica do quadro de VB não necessariamente implica em cura microbiológica e, mesmo que ela ocorra, isto não garante que não vá recrudescer.<sup>24,25,26</sup> A microbiota vaginal alterada, seja no TPP (34,6%), seja no parto prematuro propriamente dito (38,4%), implica em novos estudos, agora não mais tendo os critérios rígidos de Nugent para o diagnóstico da VB, mas sim um critério, talvez mais significativo e mais abrangente, que é a ausência de lactobacilos protetores.

Mesmo não atingindo diferenças estatisticamente significativas para VB, provavelmente devido ao pequeno número de pacientes, encontramos 2,7 mais casos no grupo TPP comparado ao grupo de TPT, confirmando alguns estudos em diferentes populações.<sup>12,16</sup> Outros autores em estudos de metanálise não encontraram razões suficientes para indicar o tratamento da VB durante a gestação com o intuito de evitar o TPP.<sup>13,18</sup> Diferentes critérios para o diagnóstico de VB talvez possam explicar a falta de resultados em diminuir as taxas de TPP e parto prematuro nessas mulheres. A solução para o parto prematuro deveria focar o tratamento que procure mais recolonizar a vagina com lactobacilos, que matar a microbiota vaginal anaeróbica.

## CONCLUSÃO

Existe forte associação entre falta de *Lactobacillus sp.* e TPP quando o diagnóstico é realizado durante o trabalho de parto. A VB foi 2,7 vezes mais freqüente nos casos de TPP quando comparada aos casos de TPT.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Donders GG, Bosmans E., Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000~ 182:8728.
- Soper DE. Gynecologic Complications of Bacterial Vaginosis: Fact or Fiction? *Curr Infect Dis Rep* 1999~ 1:3937.
- Ness RB, Hillier SL, Richter HE, Soper D.E, Stamm C, Mcgregor J et al. Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli, and facultative bacteria in the vagina. *Obstet Gynecol* 2002~ 100:7658.
- Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivationindependent methods. *Microbiology* 2004~ 150:256573.
- Giraldo PC, Ribeiro Filho AD, Simões JÁ, Gomes FAM, Magalhães J. Vulvovaginitis uncommon aspects to be considered. *J Bra Gynec* 1997~ 107:8393.
- Burton JP, Cadieux PA, Reid G. Improved Understanding of the Bacterial Vaginal Micro biota of Women before and after Probiotic Instillation. *Applied Environm Microbiol* 2003~ 69:97101.
- Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J et al. Hydrogen peroxideproducing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis* 1996~ 174:105863.
- Royce RA, Thorp J, Granados JL, Savitz DA. Bacterial vaginosis associated with HIV infection in pregnant women from North Carolina. *J AIDS Hum Retrovirol* 1999~ 20:3826.
- Schwebke JR. Abnormal Vaginal Flora as a Biological Risk Factor for Acquisition of HIV Infection and Sexually Transmitted Diseases. *J Infect Dis* 2005~ 192:13157.
- Tohill BC, Heilig CM, Klein RS, Rompalo A, CuUvin S et al. Vaginal flora morphotypic profiles and assessment of bacterial vaginosis in women at risk for HIV infection. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004~ 12:1216.
- Vasquez A, Jakobsson T, Ahrne S, Forsum U, Molin G. Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. *J Clin Microbiol* 2002~ 40:27469.
- McGregor JA, French JI. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Survey* 2000~ 55:119.
- Carey JC, Klebanoff MA, Hauth JC, Hillier SL, Thom EA, Ernest JM. et al. Metranidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacteiral vaginosis. *N Engl Med* 2000~ 342:53440.
- Adinkra P, Lamont RF. Adverse obstetric sequelae of bacterial vaginosis. *Hosp Med* 2000~ 6:4757.
- Kimberlim DF, Andrews WW. Bacterial vaginosis: association with adverse pregnancy outcome. *Semin Perinatol* 1998~ 22:24250.
- McGregor JA, French LI, Lawellin D, FrancoBuff A, Smith C, Todd JK. Bacterial proteaseinduced reduction of chorioamniotic membrane strength and elasticity. *Obstet Gynecol* 1987~ 69:16774.
- Nugent RP, Hrohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991~ 29:297301.
- Ugwumadu A, Reid F, Hay P, Manyonda I. Natural history of bacterial vaginosis and intermediate flora in pregnancy and effect of oral clindamycin. *Obstet Gynecol* 2004~ 104:1149.
- Wilson JD, Shann SM, Brady S., MammenTobin AG, Evans AL, Lee RA. Recurrent bacterial vaginosis: the use of maintenance acidic vaginal gel following treatment. *Int J STD AIDS* 2005~ 16:7368.
- Riggs MA, Klebanoff MA. Treatment of vaginal infections to prevent preterm birth a metaanalysis. *Clin Obstet Gynecol* 2004~ 47~ 796807.

21. Morris M, Nicoll A, Simims I, Wilson J, Catchpole M. Bacterial vaginosis: a public health review. BJOG 2001~ 108:43950.
22. Wang J. Bacterial vaginosis. Prim Care Update Ob Gyns 2000~ 7:1815.
23. Yost NP, Cox SM. Infection and preterm labor. Clin Obstet Gynecol 2000~ 43:75967.
24. Schwebke JR. Bacterial vaginosis. Curr Infect Dis Rep 2000~ 2:147.
25. Donders GG, Riphagen I, Vam Den Bosch T. Abnormal vaginal flora, cervical length and preterm birth. Ultrasound Obstet Gynecol 2000~ 16:4967.
26. Goffinet F, Maillard F, Mihoubi N, Kayem G, Papiernik E, Cabrol

D et al. Bacterial vaginosis: prevalence and predictive value for premature delivery and neonatal infection in women with preterm labour and intact membranes. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003~ 108:14651.

**Endereço para correspondência:**

**PAULO GIRALDO**

Rua Dom Francisco de Campos Barreto, 145 Campinas, São Paulo, Brasil

CEP:13092160

Tel: 55 19 37889403 Fax: 55 19 37889306

Email: giraldo@unicamp.br

Recebido em: 17/05/2006

Aprovado em: 23/08/2006