Maria Isabel Valdomir Nadaf

Avaliação da transferência placentária e pelo colostro de anticorpos IgG e IgA anti-*Staphylococcus aureus* em mães com e sem colonização nasal

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Patricia Palmeira

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Nadaf, Maria Isabel Valdomir

Avaliação da transferência placentária e pelo colostro de anticorpos IgG e IgA anti-*Staphylococcus aureus* em mães com e sem colonização nasal / Maria Isabel Valdomir Nadaf. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.

Orientadora: Patricia Palmeira.

Descritores: 1.*Staphylococcus aureus* 2.Imunidade materno-adquirida
3.Recém-nascido 4.Placenta 5.Colostro 6.Imunoglobulina G 7.Imunoglobulina A
8.Afinidade de anticorpos

USP/FM/DBD-160/14

A minha avó

*Dedico esta tese a Dona Izabel do Nascimento Vieira Santos, uma migrante
nordestina, que diante das adversidades da vida, me fez acreditar no poder
construtivo do amor.
Saudades eternas, vó.*

Agradecimento especial

*À minha orientadora Dra. Patricia Palmeira, pelo acolhimento e dedicação na
transmissão de conhecimentos fundamentais para a continuidade de meu
crescimento profissional, ético e humano.*

Agradeço, primeiramente, a Deus por me dar uma missão tão magnífica nesta vida, a de pediatra e professora deste ofício. No dia a dia, posso cuidar de crianças e jovens, de mães e famílias, e com eles crescer e compartilhar os conhecimentos, dores e alegrias, em um exercício contínuo de humildade e fé.

Este espaço é dedicado a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho. Não sendo possível citar a todos, há, no entanto, alguns a quem não posso deixar de manifestar o meu apreço e agradecimento sincero:

À Universidade Federal de Mato Grosso, na pessoa da Magnífica Reitora, Profa. Dra. Maria Lucia Cavalli Neder, pelo empenho institucional na realização do Doutorado Inter institucional (DINTER-UFMT/ICr-FMUSP).

Ao Prof. Dr. Werther Brunow de Carvalho, Coordenador do Programa de Pós- Graduação do Departamento de Pediatria da Universidade de São Paulo, pelo compromisso, com a qualificação dos docentes de pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Bezerra de Melo, Coordenador do DINTER-UFMT-USP pela paciência e esforço incansável na realização deste DINTER.

A Profa. Dra. Sandra Coenga, Vice Coordenadora do DINTER-UFMT-USP pela dedicação e orientação na realização do DINTER.

A Prof. Dra. Cristina Miuki Jacob, Coordenadora em São Paulo do DINTER-UFMT-USP, pela dedicação na realização deste DINTER.

Ao Prof. Dr. Antonio José de Amorim, Diretor da Faculdade de Medicina-UFMT pelo apoio para a realização do DINTER.

Ao Prof. Ms. Carlos Antônio Maciel de Moraes Chefe do Departamento de Pediatria da FM/UFMT, pelo carinho e incentivo para realização deste DINTER.

À Profa. Dra. Magda Maria Sales Carneiro-Sampaio, Presidente do Conselho Diretor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da USP e Coordenadora do Laboratório de investigação médica (LIM-36) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por disponibilizar a infraestrutura laboratorial necessária ao desenvolvimento do presente estudo.

A todos os integrantes do LIM-36, em especial à Biomédica Camila Rennó Guimarães pela ajuda e presteza na identificação e organização das amostras.

A biomédica, Laila Lima, pelo zelo e dedicação diária e sorriso amigo, durante os trabalhos de padronização e realização das técnicas utilizadas nesta tese.

Ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário Júlio Müller (HUFJM), em especial à Dra. Inês Stranieri que nos ajudou na realização dos exames de microbiologia.

A Dra. Rosane Christine Hahn, Coordenadora do Laboratório de Investigação da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) que disponibilizou a infraestrutura necessária para o processamento das amostras de soro.

A Profa. Dra. Bianca Borsatto Galera e demais integrantes do Laboratório de Imunogenética da FM/UFMT, que cederam o espaço no freezer a -80 graus e conjuntamente zelaram pela manutenção das amostras congeladas até o transporte para a realização dos ensaios no LIM-36.

A todos os profissionais do Centro Obstétrico e Alojamento Conjunto do Hospital e Maternidade Santa Helena que sempre estiveram disponíveis, contribuindo com as coletas e me auxiliando quando fosse necessário.

Às mães que concordaram em participar desta pesquisa.

Ao professor Dr. Arturo Alejandro Zavala Zavala pela contribuição estatística nesta tese.

Às secretárias da Pós-Graduação do Departamento de Pediatria/FMUSP da unidade do Instituto de Saúde da criança, por estarem sempre prontamente dispostas a me auxiliar no que fosse preciso.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro ao DINTER-UFMT-USP.

A todos os professores e colegas do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de Federal de Mato Grosso, pelo esforço coletivo para a manutenção das atividades diárias no período de afastamento e cumprimento do estágio na instituição promotora.

Aos meus filhos Luiz Gustavo e Izabel Nazira, pela experiência fascinante e contínua da maternidade, ao meu esposo pelo apoio diário e à todos os familiares e amigos que sempre estiveram do meu lado, mesmo a longas distâncias.

E, finalmente, a minha grande amiga, Prof. Dra. Olga Akiko Takano, por me ensinar a nunca desistir de meus sonhos.

Muito obrigada!

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	
LISTA DE SÍMBOLOS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
SUMMARY	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 MÉTODOS	19
3.1 Considerações éticas	19
3.2 Casuística	19
3.3 Delineamento Experimental	20
3.4 Isolamento e identificação do <i>S. aureus</i>	21
3.5 Obtenção de amostras de sangue materno, sangue de cordão umbilical e de colostro	21
3.6 Detecção de IgG total no soro materno e de cordão	22
3.7 Detecção de IgA total no colostro	22
3.8 Detecção de anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i>	23
3.9 Detecção de anticorpos IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i>	26
3.10 Detecção da avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i>	27
3.11 Análise estatística	27
4 RESULTADOS	30
4.1 Características da amostra	30
4.1.1 Características demográficas da população do estudo	30
4.2 Concentrações séricas de IgG total	31
4.3 Concentrações séricas de IgG anti- <i>S. aureus</i>	34
4.3.1 Títulos séricos de IgG1 anti- <i>S. aureus</i>	36

4.3.2	Títulos séricos de IgG2 <i>anti-S. aureus</i>	38
4.3.3	Comparação entre os títulos de anticorpos IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i>	39
4.3.4	Taxa de transferência placentária de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i>	42
4.4	Concentrações de IgA total em colostro	43
4.5	Concentrações de IgA anti- <i>S. aureus</i> em colostro	45
4.6	Avidez de anticorpos IgG anti- <i>S. aureus</i> em amostras pareadas de soro materno e de cordão	46
4.7	Avidez de anticorpos IgA anti- <i>S. aureus</i> em amostras de colostro	47
4.8	Comparação entre os índices de avides dos anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i> do soro e colostro materno	48
5	DISCUSSÃO	51
6	CONCLUSÕES	63
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

APÊNDICES

Apêndice 1 - Ficha de coleta de dados

Apêndice 2 - Tabela de classificação da gestante dos grupos caso (n=49) e controle (n=98) segundo IMC para Idade gestacional

Apêndice 3 - Figura da distribuição dos grupos caso (n=45) e controle (n=98), no tempo de coleta do colostro (horas após o parto)

Apêndice 4 - Figura da distribuição dos grupos caso (n=49) e controle (n=98), por renda familiar *per capita* (salário mínimo/pessoa/mês)

Apêndice 5 - Características individuais das mães e recém-nascidos do Grupo Caso

Apêndice 6 - Características individuais das mães e recém-nascidos do Grupo Controle

Apêndice 7 - Descrição dos resultados totais do Grupo Caso

Apêndice 8 - Descrição dos resultados totais do Grupo Controle

Anexos

Anexo 1 - Aprovação do Comitê USP

Anexo 2 - Aprovação do Comitê Júlio Müller

Anexo 3 - Artigo submetido

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Anti- <i>S. aureus</i>	Anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
APPs	Antimicrobial proteins and peptides; proteínas e peptídeos antimicrobianos
ATCC	American tissue cell collection
BCR	B cell receptor; receptor de células B
BHI	Brain heart infusion
C3	Componente 3 do complemento
C5	Componente 5 do complemento
CCL19	Chemokine (C-C motif) ligand 19
CCL21	Chemokine (C-C motif) ligand 21
CCR10	CC chemokine receptor 10
CCR7	CC chemokine receptor 7
CD62L	(L-selectina)
CHIPS	Chemotaxis inhibitory protein of <i>S. aureus</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
ClfA	Fator de aglomeração A
CMV	Citomegalovírus
CP5-Epa	Polissacarídeo capsular 5 conjugado com uma proteína carreadora (exoproteína A detoxificada de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [Epa])
CP5-Hla	Polissacarídeo capsular 5 conjugado com uma proteína carreadora a alfa-toxina detoxificada de <i>S. Aureus</i> (alfa-hemolisina) [hla _{h35l}],
CP8-Epa	Polissacarídeo capsular 8 conjugado com uma proteína carreadora (exoproteína A detoxificada de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [Epa])
CXCL13	C-X-C motif chemokine 13
CXCR5	C-X-C chemokine receptor type 5
DC	Dendritic cell; célula dendrítica
DNA	Desoxiribonucleic acid
DO	Densidade ótica

DP	Desvio padrão
DUM	Data da Última Menstruação
EDAC	(N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride
Efb	extracellular fibrinogen binding protein
ELISA	Enzyme-Linked immunosorbent assay; ensaio imunoenzimático
Epa	Exoproteína A detoxificada de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fc	Fragmento cristalizável
FcRn	Receptor Fc neonatal
FM	Faculdade de Medicina
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> ; Vírus da imunodeficiência humana
Hla _{H35L}	alfa-toxina detoxificada de <i>S. aureus</i> , alfa-hemolisina
IC	Intervalo de confiança
ICr/FMUSP	Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IG	Idade Gestacional
IgA	Imunoglobulina A
IgA anti- <i>S. aureus</i>	Anticorpo do tipo IgA anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
IgG	Imunoglobulina de classe G
IgG anti- <i>S. aureus</i>	Anticorpo do tipo IgG anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
IgG1 anti- <i>S. aureus</i>	Anticorpo do tipo IgG1 anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
IgG2 anti- <i>S. aureus</i>	Anticorpo do tipo IgG2 anti- <i>Staphylococcus aureus</i>
IgM	Imunoglobulina M
IL	interleukin; interleucina
IL-5	Interleucina 5
IsdA	Iron-regulated surface determinant A
IsdH	Iron-regulated surface determinant H
ITIMs	Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs; <i>motifs</i> inibidores de imunoreceptor baseado em tirosina
LB	Linfócito B

LIM-36	Laboratório de Investigação Médica 36
LT	Linfócito T
MALT	Tecido linfóide associado às mucosas
MBL	Mannose-binding lectin; lectina ligadora de manose
MHC	Major histocompatibility complex; complexo maior de histocompatibilidade
MSCRAMM	Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
MT	Mato Grosso
MyD88	Myeloid differentiation factor-88; fator de diferenciação mielóide 88
NALT	Nasopharynx-associated lymphoid tissue; tecido linfóide associado à nasofaringe
NETs	Nucleic acid-based neutrophil extracellular traps; armadilhas extracelulares à base de ácidos nucléicos
OPD	Ortofenilenodiamina
PAMP	Padrões moleculares associados a patógenos
PBS	Phosphate buffered saline; solução salina tamponada com fosfato
PBS-T	PBS Tween
PC	Polissacarídeo capsular
PC5	Polissacarídeo capsular 5
PC8	Polissacarídeo capsular 8
PCR	Proteína C reativa
pIgR	Polymeric immunoglobulin receptor; receptor polimérico de imunoglobulina
PNAG	Poly-N-acetil glucosamine; poli-N-acetil-glucosamina
PRRs	Pattern recognition receptors; receptores de reconhecimento de padrões
PVC	Policloreto de vinila
RN	Recém-nascido
RNPT	Recém-nascido pré-termo
RNT	Recém-nascido de termo

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SAg	Superantígenos
SCIN	Staphylococcal complement inhibitor
SEB	Staphylococcal enterotoxin B
SEC	Staphylococcal enterotoxin C
SIgA	Imunoglobulina A secretória
SpA	Proteína A estafilocócica
ST	Sinciciotrofoblasto
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
TCR	T cell receptor; receptor de células T
TD	Timo dependente
TGF- β	Transforming growth factor- β ; fator transformador de crescimento β
Th2	T helper 2
TI	Timo independente
TLR	Toll-like receptor; receptor do tipo Toll
TNF	Tumor necrosis factor; fator de necrose tumoral
TSST-1	Toxic shock syndrome toxin 1; toxina da síndrome do choque tóxico 1
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFMT	Universidade Federal de Mato Grosso
$\alpha 4\beta 1$	Integrina alfa 4 beta1

LISTA DE SÍMBOLOS

dL	Decilitro
g	Gramma
°C	Graus Celsius
h	Hora
=	Igual
L	Litro
>	Maior
≥	Maior ou igual
®	Marca registrada
<	Menor
≤	Menor ou igual
μL	Microlitro
mg	Miligramma
mL	Mililitro
M	Molar
nm	Nanômetro
N	Normal (concentração do ácido sulfúrico)
%	Porcentagem
rpm	Rotações por minuto
UA	Unidades arbitrárias

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Componentes do <i>S. aureus</i> e crescimento bacteriano	5
Figura 2 -	Concentrações de IgG total (mg/dL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos nos grupos caso (n=49) e controle (n=98).....	32
Figura 3 -	Taxa de transferência placentária de IgG total (%) das amostras de soro dos grupos caso e controle.....	33
Figura 4 -	Concentrações de IgG anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso (n=49) e controle (n=98).....	35
Figura 5 -	Taxa de transferência placentária de IgG anti- <i>S. aureus</i> (%) nas amostras dos grupos caso (n=49) e controle (n=98).....	36
Figura 6 -	Títulos de IgG1 anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso (n=25) e controle (n=44).....	37
Figura 7 -	Títulos de IgG2 anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso (n=18) e controle (n=42).....	39
Figura 8 -	Títulos de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soro materno dos grupos caso e controle.....	40
Figura 9 -	Títulos de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soros de cordão umbilical dos RN dos grupos caso e controle.....	41
Figura 10 -	Taxa de transferência placentária (%) de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> nas amostras dos grupos caso e controle.....	43
Figura 11 -	Distribuição das concentrações de IgA total (g/L) nas amostras de colostro dos grupos caso (n=45) e controle (n=98).....	44

Figura 12 -	Distribuição das concentrações de IgA anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) nas amostras de colostro dos grupos caso (n=45) e controle (n=97).....	45
Figura 13 -	Índices de avidéz dos anticorpos IgG anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soro materno e de seus respectivos RN dos grupos caso (n=17) e controle (n=18).....	47
Figura 14 -	Índices de avidéz dos anticorpos IgA anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de colostro materno dos grupos caso (n=17) e controle (n=17).....	48
Figura 15 -	Índices de avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soro e colostro materno dos grupos caso e controle.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características demográficas e obstétricas de parturientes (n=147) segundo o estado carreador nasal de <i>S. aureus</i> , Cuiabá-MT.....	31
Tabela 2 -	Análise estatística descritiva das concentrações de IgG total (mg/dL) em pares de amostras de soro materno e de cordão umbilical de seus respectivos recém-nascidos dos grupos caso e controle.....	32
Tabela 3 -	Taxa de transferência placentária de IgG total (%) dos grupos caso e controle para seus recém-nascidos.....	33
Tabela 4 -	Análise estatística descritiva das concentrações de IgG anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso e controle.....	34
Tabela 5 -	Taxa de transferência placentária de IgG anti- <i>S. aureus</i> (%) dos grupos caso e controle para seus respectivos recém-nascidos.....	35
Tabela 6 -	Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 anti- <i>S. aureus</i> em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso e controle.....	37
Tabela 7 -	Análise estatística descritiva dos títulos de IgG2 anti- <i>S. aureus</i> em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso e controle.....	38
Tabela 8 -	Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> em amostras de soro materno dos grupos caso e controle.....	40
Tabela 9 -	Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> em amostras de soro de cordão umbilical dos grupos caso e controle.....	41
Tabela 10 -	Taxa de transferência placentária (%) de IgG1 e IgG2 anti- <i>S. aureus</i> dos grupos caso e controle para seus respectivos recém-nascidos.....	42
Tabela 11 -	Estatística descritiva das concentrações de IgA total (g/L) em amostras de colostro dos grupos caso e	44

	controle.....	
Tabela 12 -	Concentrações de IgA anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL) em amostras de colostro dos grupos caso e controle.....	45
Tabela 13 -	Índices de avidéz dos anticorpos IgG anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soro materno e de seus respectivos recém-nascidos dos grupos caso e controle.....	46
Tabela 14	Índices de avidéz dos anticorpos IgA anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de colostro materno dos grupos caso e controle.....	48
Tabela 15	Índices de avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i> nas amostras de soro e colostro materno dos grupos caso e controle.....	49

RESUMO

Nadaf MIV. Avaliação da transferência placentária e pelo colostro de anticorpos IgG e IgA anti-*Staphylococcus aureus* em mães com e sem colonização nasal [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

A transferência passiva de anticorpos da mãe para o filho auxilia na adaptação ao meio externo. No recém-nascido (RN), a colonização pelo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é precoce, sendo este um importante agente etiológico em infecções neonatais e no lactente jovem, para o qual ainda não se dispõem de vacina. OBJETIVOS: Avaliar as concentrações, títulos e avides de anticorpos maternos anti-*S. aureus* do tipo IgG e IgA e a passagem desses anticorpos para os RN por transferência placentária e pelo colostro. MÉTODOS: Estudo caso-controle de 147 parturientes saudáveis. Foram coletadas amostras de soros maternos, de cordão umbilical e colostro. O grupo caso foi definido pela colonização nasal natural pelo *S. aureus*, sendo que para cada caso (n=49) foram selecionados 2 controles (n=98). Foram utilizadas as metodologias de imunoturbidimetria para dosagem de IgG total, ensaio imunoenzimático para dosagem IgA total e para a aferição das concentrações e títulos de anticorpos específicos anti-*S. aureus* (IgG sérica, subclasses séricas IgG1 e IgG2, IgA de colostro e os índices de avides). Foram aplicados testes não paramétricos de Wilcoxon para amostras pareadas e de Mann-Whitney para amostras não pareadas, com intervalo de confiança de 95%, nível de significância $p < 0,05$. RESULTADOS: No grupo caso, as concentrações séricas de IgG total materna foram maiores mas com menor taxa de transferência placentária de IgG total, ocorrendo o inverso para o grupo controle. Não foram observadas diferenças nas concentrações séricas de IgG materna anti-*S. aureus* entre os grupos, mas com taxa de transferência placentária significativamente menor no grupo caso. Observou-se que os títulos específicos de IgG1 anti-*S. aureus* foram mais baixos no soro materno e no cordão do grupo caso, com taxas de transferência similar para os grupos caso e controle. Para os títulos específicos de IgG2 anti-*S. aureus*, não foram observadas diferenças entre os grupos caso e controle, com taxas de transferência similares entre os grupos. Observou-se que os títulos de IgG2 foram maiores que os de IgG1, tanto no soro materno como no de cordão em ambos os grupos. No soro materno e de cordão, não foram encontradas diferenças entre os grupos nos ensaios de avides de IgG anti-*S. aureus*. No estudo de colostro, a concentração de IgA total foi maior no grupo caso, mas sem diferenças entre os grupos para a IgA anti-*S. aureus*. A comparação da avides de anticorpos IgA anti-*S. aureus* do colostro com a de IgG anti-*S. aureus* do soro materno, em ambos os grupos, mostrou que a avides de IgA foi maior. CONCLUSÕES: Os resultados demonstraram que a colonização nasal materna por *S. aureus* não esteve associada com uma maior transferência para o RN de anticorpos IgG ou IgA específicos via placenta ou colostro. A maior transmissão de títulos elevados de IgG2 específicos para o recém-nascido, isto é, anticorpos com uma baixa atividade opsonizante, reitera a maior susceptibilidade neonatal para este agente patogênico. A IgA secretora no colostro apresentou melhor índice de avides do que a IgG do soro, o que corrobora com a importância da amamentação nos primeiros meses de vida.

Descritores: *Staphylococcus aureus*; Imunidade materno-adquirida; Recém-nascido; Placenta; Colostro; Imunoglobulina G; Imunoglobulina A; Afinidade de anticorpos.

SUMMARY

Nadaf MIV. Evaluation of placental and colostral transfer of anti-*Staphylococcus aureus* IgG and IgA antibodies in mothers with and without nasal colonization [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

The passive transfer of antibodies from mother to child assists in adjustment to the external environment. In the newborn (NB), colonization by *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) occurs early, which is an important etiologic agent in neonatal and young infant infections, for which no vaccine is available. AIMS: To evaluate concentrations, titers and avidity of anti-*S. aureus* maternal IgG and IgA antibodies and transmission of these antibodies to the newborns via placental transfer and colostrum. METHODS: Case-control study of 147 healthy pregnant women. Samples of maternal serum, cord blood and colostrum were collected. The case group was defined by natural nasal colonization with *S. aureus*, and for each case (n = 49) were selected 2 controls (n = 98). Immunoturbidimetric assay was used to measure total IgG, and immunoenzymatic assay to measure total IgA in colostrum and anti-*S. aureus* concentrations and titers (serum IgG, serum IgG1 and IgG2, colostrum IgA and IgG and IgA avidity indexes). Nonparametric Wilcoxon test for paired samples and the Mann-Whitney test for unpaired samples were applied, with a confidence interval of 95%, significance level of $p < 0.05$. RESULTS: In the study group, maternal total IgG serum concentrations were higher but with lower total IgG placental transfer ratio, while the opposite occurred for the control group. No differences were observed in anti-staphylococcal maternal IgG serum concentrations between groups, but placental transfer ratio was significantly lower in the case group. It was observed that anti-*S. aureus* IgG1 titers were lower in maternal and cord serum from the case group, with similar transfer ratios for case and control groups. Regarding anti-staphylococcal IgG2 titers, no differences were observed between case and control groups, with similar transfer ratios between groups. It was observed that specific IgG2 titers were higher than those of IgG1 in both maternal and cord serum from both groups. In maternal and cord blood serum, no differences between groups were found in avidity assays of anti-*S. aureus* IgG. In colostrum, total IgA concentrations were higher in the case group, but no differences between groups for anti-*S. aureus* IgA were detected. The comparison of anti-staphylococcal IgA antibodies avidity in colostrum with anti-*S. aureus* IgG in maternal serum from both groups, showed that IgA presents higher avidity indexes. CONCLUSIONS: The results demonstrated that maternal nasal colonization by *S. aureus* was not associated with a higher transfer to the NB of specific IgG or IgA antibodies via the placenta or colostrum. The greatest transmission of Sa-specific IgG2 titers to the newborn, i.e., antibodies with low opsonizing activity, reiterates the higher neonatal susceptibility to this pathogen. Secretory IgA in colostrum showed better avidity index than serum IgG, which reinforces the importance of breastfeeding in the early months of life.

Descriptors: *Staphylococcus aureus*; Immunity, maternally-acquired; Infant, newborn; Placenta; Colostrum; Immunoglobulin G; Immunoglobulin A; Antibody affinity.

1 INTRODUÇÃO

Na espécie humana, a prole nos meses iniciais de vida, encontra forte proteção materna provida em parte, pelos anticorpos da classe IgG transferidos através da placenta e produzidos pela mãe contra os antígenos aos quais a mesma tenha sido exposta, quer seja por meio de colonização, infecção ou vacinação (HANSON e SILFVERDAL, 2009). Conforme os níveis de IgG materna decaem, o risco de contrair infecções aumenta. Este risco decresce concomitantemente ao desenvolvimento do sistema imune do recém-nascido (RN) induzido pelo contato com microrganismos.

Após o nascimento, a proteção provida pela mãe continua através da transferência de anticorpos maternos ao RN pelo colostro e leite materno, ricos em anticorpos produzidos pela mãe, principalmente contra agentes que colonizam as mucosas, sendo a IgA, a principal classe de imunoglobulina presente no leite, seguida pela IgM e IgG (BRANDTZAEG, 2011).

Dentre as bactérias que colonizam as mucosas das parturientes e, logo após o nascimento, a de seus RN, encontra-se o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Estudos de colonização do binômio mãe-filho demonstram que, desde o nascimento, filhos de mães carreadoras nasais de *S. aureus* apresentam-se mais colonizados por esse microrganismo do que os filhos de mães não carreadoras nasais, com alta concordância genômica entre as cepas de *S. aureus* maternas e de seus RN (CHATZAKIS *et al.*, 2011; JIMENEZ-TRUQUE *et al.*, 2012; LESHEM *et al.*, 2012).

No período neonatal, o *S. aureus* tem sido associado às infecções de gravidade variável, como surtos nosocomiais de impetigo neonatal (JURSA-KULESZA *et al.*, 2009), onfalite (MIR *et al.*, 2011), artrite e osteomielite (BERBERIAN *et al.*, 2010; MONTGOMERY *et al.*, 2013), sepse neonatal tardia,

adquirida em hospital ou oriunda da comunidade (GANATRA e ZAIDI, 2010; DOWNIE *et al.*, 2013; COOMBS *et al.*, 2013) e à síndrome da morte súbita infantil (HARRISON *et al.*, 2008; WEBER *et al.*, 2011).

O *S. aureus* que vence as barreiras epiteliais tem a sua destruição centrada nos processos de fagocitose e destruição da bactéria, com importante participação dos neutrófilos (JONGERIUS *et al.*, 2012; RIGBY e DeLEO, 2012).

No recém-nascido a resposta imune neonatal encontra-se desviada para Th2 e produção de interleucinas anti-inflamatórias. Os neutrófilos do RN no sangue de cordão e com 1 mês de vida tem níveis de receptores inibitórios maiores comparativamente aos do adulto. Os receptores imunes inibitórios antagonizam sinalização de ativação celular através de motivos de inibição do imunoreceptor baseado em tirosina (ITIMs), o que nos primeiros dias de vida, contribui para que se evite uma inflamação excessiva durante a fase de colonização com a flora normal, porém mediante uma infecção pelo *S. aureus*, reduz a capacidade de ativação celular em monócitos e neutrófilos (COOMBS *et al.*, 2013).

Na resposta imune inata neonatal níveis elevados de adenosina plasmática em sangue de cordão comparado ao de adultos, está associada à prejuízos no combate a infecção estafilocócica no recém-nascido. A adenosina quer seja plasmática ou produzida pelo *S. aureus* como mecanismo de evasão da imunidade inata, atua como inibidor da via de sinalização do fator de diferenciação mielóide 88 (MyD88) relacionada ao receptor *Toll-like 2* (TLR2) em monócitos, com consequente menor síntese do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), ocasionando um aumento da razão entre os níveis de interleucina 6 (IL6) e de TNF no plasma do RN, comparativamente, ao do adulto. Embora a IL6 seja uma citocina pró-inflamatória, tem sido postulado que esta atue finalizando a migração, inibido a produção e reduzindo a função dos neutrófilos à nível tecidual, facilitando um *switch* do infiltrado

inflamatório rico em neutrófilos para um infiltrado com predomínio de linfócitos e mononucleares

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória e atua ativando neutrófilos a produzirem e secretarem proteínas e peptídeos antimicrobianos (APPs) os quais, por sua vez, agem sobre a bactéria causando lise da parede bacteriana (defensinas e lisozima), ou ligando-se ao ferro, reduzindo a oferta deste nutriente para a bactéria (lactoferrina). As APPs fixam-se nas armadilhas extracelulares à base de ácidos nucléicos produzidas pelos neutrófilos (NETs), as quais também encontram-se em níveis menores no sangue de cordão em comparação aos níveis do adulto. Assim, em RN, os níveis menores de NETs e APPs contribuem para a elevada ocorrência de disseminação hematogênica do *S. aureus* (COOMBS *et al.*, 2013).

Em infecções estafilocócicas, a opsonofagocitose será o passo inicial para a captura da bactéria pelos fagócitos com ativação da cascata do complemento. Os anticorpos séricos, na imunidade adaptativa e a lectina ligadora de manose (MBL) na imunidade inata, são importantes fatores de defesa do hospedeiro, por atuarem auxiliando na opsonofagocitose e ativação da cascata do completo. Os anticorpos ativam a cascata pela via clássica e a MBL pela via da lectina (KUROKAWA *et al.*, 2013).

Os antígenos que podem elicitar a resposta de anticorpos específicos para *S. aureus* estão relacionados predominantemente a estrutura microbiológica da superfície bacteriana tais como, os polissacarídeos capsulares, o ácido teicóico, o peptidoglicano, as adesinas e proteína A e as substâncias liberadas pela bactéria no meio extracelular (enzimas e toxinas) durante os diferentes estágios da patogênese (Figura 1) (LOWY, 1998; HOLTFRETER *et al.*, 2010).

Na parede do *S. aureus*, os principais glicopolímeros são ácido teicóico e lipoteicóido e os anticorpos dirigidos contra esses determinantes antigênicos

demonstraram importante atividade opsonofagocítica, principalmente contra o ácido teicóico (KUROKAWA *et al.*, 2013).

O *S. aureus* utiliza vários mecanismos de evasão da imunidade inata, dentre os quais, a produção de proteínas que reduzem a migração de leucócitos para o sítio de infecção, por impedir a diapedese e diminuir a expressão de receptores de moléculas quimiotáticas e que interferem com a formação de C3 e C5 convertase, desta forma reduzindo o nível da opsonina C3b e do peptídeo quimiotático C5a. Componentes de superfície como o fator de aglomeração A (ClfA), a proteína A estafilocócica (SpA) e o polissacarídeo capsular comprometem o reconhecimento pelas opsoninas na superfície da bactéria (FOSTER, 2009).

Embora o *S. aureus* seja geralmente classificado como um patógeno extracelular, dados revelam a sua capacidade de infectar vários tipos de células hospedeiras, tanto fagócitos profissionais quanto células não fagocíticas, como as células endoteliais, fibroblastos e outras. Após a fagocitose, *S. aureus* pode induzir a apoptose da célula hospedeira e sobreviver durante vários dias intracelularmente, no citoplasma, o que se sugere ser um ambiente desprovido de mecanismo efetor anti-*S. aureus*. Estes patógenos são equipados com uma grande variedade de fatores de virulência para neutralizar os mecanismos de defesa do hospedeiro (DAS e BISHAYI, 2009). Estes fatores conferem resistência a intermediários reativos de oxigênio, radicais de óxido nítrico, defensinas e proteínas bactericidas produzidas pelos fagócitos (FOSTER, 2009).

Para cada nova estratégia de evasão desenvolvida pelo *S. aureus*, o sistema imune do hospedeiro estará diante de antígenos diferentes e tem a oportunidade de elaborar uma resposta imunológica adaptativa, que irá variar em intensidade de acordo com o antígeno que a bactéria expressa *in vivo* (PROCTOR, 2012), bem

como seu habitat extra ou intracelular e o tipo de resposta imune despertada no hospedeiro (BRÖKER *et al.*, 2014).

Na fase de crescimento exponencial, durante a colonização nasal os antígenos mais comumente expressos e conhecidos por induzirem imunidade são: coagulase, proteína A, fator de ligação do fibrinogênio e proteínas ligadoras de elastina, fibrinogênio e colágeno. Na fase de crescimento estacionário, que ocorre durante a invasão tecidual e disseminação hematogênica, os antígenos expressos são: enterotoxina B, toxina da síndrome do choque tóxico 1 (TSST-1), α -toxina, antígenos capsulares, antígenos da parede e da membrana celular (Figura 1) (LOWY, 1998).

Figura 1 – Componentes do *S. aureus* e crescimento bacteriano (A) mostra a superfície e as proteínas secretadas. A síntese de muitas destas proteínas é dependente da fase de crescimento, tal como apresentado na figura e é controlada por genes reguladores, tais como *agr*. (B) e (C) mostram secções transversais do envelope. Muitas das proteínas de superfície celular têm uma organização estrutural semelhante a do fator de aglutinação, incluindo segmentos repetidos de aminoácidos (C). TSST-1: toxina do choque tóxico 1 (Fonte: LOWY, 1998).

No caso de carreadores nasais, BURIAN *et al.* (2012) demonstraram que apesar de uma determinada cepa expressar *in vivo*, *cluster* de genes relacionados à expressão de algumas toxinas, nem sempre o sistema imunológico desenvolve anticorpos contra estas toxinas. Segundo esses autores, a densidade bacteriana seria o fator ativador do *cluster* destes genes *in vivo* e essa densidade é variável de acordo com a fase de crescimento bacteriano.

Os antígenos de *S. aureus* vêm sendo estudados quanto ao seu poder imunogênico e o papel desempenhado na patogênese, quer seja na colonização ou na doença, com a finalidade de desenvolvimento de vacinas (BRANDTZAEG, 2011; PROCTOR, 2012) ou imunização passiva através de leite hiperimune (PLAT-SINNIGE *et al.*, 2009; HURLEY e THEIL, 2011).

Para o desenvolvimento de vacinas anti-*S. aureus*, o conhecimento atual indica a necessidade de utilização de múltiplos determinantes antigênicos que atuem em diferentes etapas da patogênese (colonização/infecção) tais como: captação de ferro (MISHRA *et al.*, 2012), ativação da cascata de coagulação e estratégias de evasão do sistema imune pelo *S. aureus* (JONGERIUS *et al.*, 2012; DeDENT *et al.*, 2012).

A ativação da imunidade anti-*S. aureus* ocorre por diferentes vias: a) ativação das células B por via T-dependente e T-independente; b) ativação de linfócitos T (LT) pela apresentação dos antígenos via MHC e de superantígeno; c) modulação da resposta humoral pela proteína A do *S. aureus* (SpA) (BRÖKER *et al.*, 2014).

Na resposta imune T-dependente, elaborada em centros germinativos, existe a participação das células apresentadoras de antígenos (APC), com apresentação do antígeno ao LT via molécula MHC de classe II e interação das células T (CD40 ligante) e B (CD40), cuja ligação é requerida para os processos seguintes de recombinação de classes com mudança de IgM para IgG/IgA/IgE e de hipermutação

somática com maturação da afinidade do anticorpo produzido. Os antígenos de *S. aureus* processados por fagócitos e apresentados aos LT induzem a proliferação e produção de células T efetoras e de memória (BRÖKER *et al.*, 2014).

Os superantígenos (SAg) ativam as células T através da interconexão de receptores de células T (TCR) com a molécula MHC II da APC, ignorando o requisito da apresentação dos antígenos via MHC II (BRÖKER *et al.*, 2014).

Na resposta imune T-independente, antígenos proteicos do *S. aureus*, como a proteína A, podem ser detectados pelos receptores *Toll like* (TLR) da superfície dos linfócitos B, levando a ativação de células B independente de T, porém com falhas nos processos de troca de classes e hipermutação somática e a não formação de células T de memória (BRÖKER *et al.*, 2014).

O epitélio escamoso das narinas anteriores é considerado o reservatório ecológico primário do *S. aureus* (SHUTER *et al.*, 1996; van BELKUM *et al.*, 2009). Neste local, o *S. aureus* faz parte da microflora da nasofaringe, interagindo com o sistema imune do hospedeiro através do tecido linfoide associado às mucosas (MALT), representado, nesta localização, pelo tecido linfoide associado à nasofaringe (NALT), sendo um sítio proposto em estudos de indução de imunidade (SHIKINA *et al.*, 2004; BRANDTZAEG, 2011; FERNANDEZ *et al.*, 2011).

As células dendríticas (DC) que migram para o epitélio das vias aéreas superiores, têm receptores que são atraídos pelas quimiocinas constitutivamente produzidas pelas células do epitélio nasal. Após a captação do antígeno, segue por via linfática para os folículos linfoides isolados das narinas, ou organizados nas estruturas do anel de Waldeyer. Linfócitos T helper e linfócitos B *naive* expressam CCR7 e CXCR5, respectivamente, que são atraídos pelas quimiocinas CCL21, CCL19 e no caso dos linfócitos B pela CXCL13 (MACPHERSON *et al.*, 2008; BRANDTZAEG, 2011).

As células dendríticas, ao apresentarem o antígeno para os linfócitos, transmitem também as propriedades de migração do tecido de origem. As células B efetoras derivadas do NALT expressam níveis elevados de moléculas de adesão e *homing*, tais como CD62L (L-selectina) e CCR10, CCR7 e a integrina $\alpha 4\beta 1$, que ao circularem no organismo pelo sistema linfático ou circulatório, retornam ao epitélio nasal e glândulas mamárias. Inicialmente as células B produzem IgM e, a seguir, sob a influência das citocinas IL-5 e TGF- β (fator transformador de crescimento β) leva à mudança de classe de imunoglobulinas, com predominância absoluta de IgA (MACPHERSON *et al.*, 2008; BRANDTZAEG, 2011).

Uma vez produzida pelos plasmócitos na lâmina própria, a IgA secretória (SIgA), composta por duas moléculas de IgA unidas pela cadeia J, se liga aos receptores poliméricos para imunoglobulina (pIgR) na porção basolateral das células epiteliais, iniciando um processo de internalização por endocitose. Assim, a IgA é transportada até a porção apical da célula epitelial, onde ocorre uma clivagem do receptor e um pequeno fragmento C-terminal transmembrânico pode permanecer ligado à SIgA ou livre é denominado de componente secretor (ASANO e KOMIYAMA, 2011). Este mecanismo de secreção de SIgA ocorre nas superfícies da mucosa oral, intestinal, brônquica, assim como na glândula mamária durante a lactação (BRANDTZAEG, 2010; FERNANDEZ *et al.*, 2011).

FERNANDES E SNIDER (2010), dentre as células B ativadas de sangue periférico, demonstraram predomínio de um subconjunto de fenótipo CD19⁺CD27^{hi}CCR10⁺IgA⁺ e que funcionalmente são células que ao término da diferenciação a nível de tecido efector são dirigidas para defesa de mucosas e produzem IgA secretora. Estas células poderão ser utilizadas como um marcador funcional para identificar uma recente produção de IgA secretória secundária a um

estímulo de doença e/ou vacinal, bem como um melhor entendimento da produção de IgA secretória em indivíduos saudáveis.

No recém-nascido, a SIgA transferida passivamente através do leite materno atua em processos de neutralização dos fatores de virulência e exclusão de microrganismos, reduzindo a ocorrência de infecção, principalmente ao nível da mucosa do trato digestório. Uma vez ligada ao antígeno, o complexo antígeno-SIgA pode ser internalizado via célula M nas placas de Peyer do intestino e apresentado para as células do sistema imune de mucosa local, induzindo resposta imune específica (HANSON e SILFVERDAL, 2009; CORTHÉSY, 2013).

Concomitantemente ao aleitamento materno, além da transferência passiva de anticorpos, ocorre a passagem de bactérias que contribui para a microbiota do RN. Estudos têm mostrado que o leite humano tradicionalmente considerado estéril pode ser fonte de microrganismos pertencentes, pelo menos, aos gêneros: *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium* e essas bactérias comensais são úteis na modulação da resposta imune adaptativa (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; MATAMOROS *et al.*, 2013).

Em estudo animal a nível de epitélio a IgA secretória tem demonstrado que com avidéz alta ou baixa participa da apresentação de antígenos via célula M em trato digestório, apresentando diretamente à células dendritas com menor indução de resposta inflamatória (CORTHÉSY, 2013).

Com a ampliação do conhecimento nos mecanismos de transcitose reversa do complexo glicosilado antígeno-IgA secretória via receptor específico da célula M, evidenciado em modelo animal e humano *in vitro* (ROCHEREAU *et al.*, 2013), vacinas orais explorando a imunidade de mucosas também vêm sendo pesquisadas.

ALVAREZ *et al.* (2013) utilizando modelo animal, encontraram em ratos, efeito profilático com administração passiva de IgA secretória purificada de colostro

humano, em mucosa respiratória, com resposta protetora contra a infecção pulmonar pelo *M. tuberculosis* e inibição de potencial infeccioso do patógeno quando incubado com IgA secretória.

A transferência transplacentária de IgG é um processo ativo via receptor neonatal para a fração Fc (FcRn) da IgG no sinciciotrofoblasto (ST) da placenta, que se encontra constantemente banhada com o sangue materno. O plasma materno é endocitado na membrana apical do ST e o pH desses vacúolos endocíticos vão se tornando acidificados para um pH próximo a 6,0, comparado com o pH 7,4 do plasma, promovendo a ligação da IgG com o receptor FcRn, ou seja, trata-se de uma ligação pH dependente, com afinidade elevada em um pH ácido (<6,5), mas não a um pH fisiológico (7,4). À medida que se aproxima do lado fetal após a fusão desses vacúolos endossomais com a membrana plasmática, o pH eleva e a molécula de IgG é liberada intacta e difunde para os capilares fetais (KUMPEL e MANOUSSAKA, 2011).

Existem evidências que o transporte placentário de IgG depende dos níveis maternos de IgG total e específica, da idade gestacional, da integridade da placenta, do tipo de subclasse de IgG e da natureza do antígeno, sendo mais intensa para os timo-dependentes (PALMEIRA *et al.*, 2012).

Embora a presença de IgG materna possa ser detectada no sangue do feto a partir de 13 semanas de gestação, o processo se intensifica em torno da trigésima semana de gestação, momento em que a expressão dos FcRn passa a ser maior no sinciciotrofoblasto. Logo, em recém-nascidos prematuros, a passagem de anticorpos maternos é menor, o que contribui para maior ocorrência de infecções nesta população (PALMEIRA *et al.*, 2012).

Nas gestações acima de 35 semanas e, sobretudo em gestações a termo, os níveis de IgG total no feto, tende a se igualar e muitas vezes, sobrepor os níveis

maternos. Nas situações onde os níveis de anticorpos maternos estão muito altos, taxas negativas de transferência placentária podem ocorrer, como resultado da saturação do FcRn durante o processo de transcitose. Estudos demonstram que o FcRn humano se liga a IgG com uma estequiometria em solução de 2:1 (FcRn:Fc) (ROOPENIAN e AKILESH, 2007).

A passagem transplacentária de IgG varia de acordo com a subclasse, sendo em ordem decrescente maior para IgG1, seguido de IgG4, IgG3 e IgG2. Esta diferença pode ser explicada, em parte pela presença de alotipos individuais dessas subclasses, sendo que a IgG3 é a mais polimórfica com 13 alotipos descritos. As variações alotípicas são caracterizadas por uma pequena diferença na sequência primária e mudanças dos aminoácidos da interface dos domínios CH2/CH3 das moléculas de IgG, o que pode afetar a afinidade pelo receptor (ELLINGER e FUCHS, 2012).

Antígenos indutores de respostas timo-dependentes (antígenos proteicos) levam a formação preferencialmente de anticorpos IgG das subclasses 1 e 3, que apresentam boa passagem placentária (PALMEIRA *et al.*, 2012).

VERKAIK *et al.* (2009) estudaram a resposta humoral para 19 proteínas estafilocócicas e a presença de colonização nasal por *S. aureus* em quatro momentos (ao nascimento, 6, 14 e 24 meses) de 57 crianças. Esses autores verificaram que os níveis de IgG anti-estafilocócicos no sangue de cordão não foram preditivos do estado de colonização aos 45 dias e 6m. Ao final do primeiro e segundo ano de vida, 24/45 (53%) e 24/42 (57%) crianças estavam colonizadas, respectivamente. Esses autores observaram que os níveis de IgG específicos contra as proteínas CHIPS, SCIN, Efb, IsdA, IsdH e SEB eram significativamente maiores aos 24 meses em crianças colonizadas e os níveis específicos de IgA sérica contra

CHIPS, IsdA e IsdH também foram significativamente maiores em crianças colonizadas.

HARRISON *et al.* (2008) avaliaram níveis de anticorpos IgG em soro materno e de cordão umbilical e IgA em leite humano contra as toxinas estafilocócicas SEB, SEC e TSST-1 e verificaram que as gestantes colonizadas pelo *S. aureus* não apresentavam níveis significantes desses anticorpos. Os autores avaliaram que na população de mães do estudo, 30% das cepas produziam SEB, 13% SEC e 24% TSST-1. Comparando níveis de IgG no sangue de cordão de gestantes com e sem colonização por *S. aureus* produtoras de toxinas, os autores encontraram diferenças significativas somente para SEB. Para IgA, a diferença observada foi para as toxinas SEC e TSST-1.

Estudos em recém-nascidos prematuros não mostraram redução da ocorrência de sepse tardia com o uso preventivo de imunoglobulina humana anti-estafilocócica (BENJAMIN *et al.*, 2006; DeJONGE *et al.*, 2007; WEISMAN *et al.*, 2011).

FOWLER e PROCTOR (2014) realizaram uma revisão recente sobre o conhecimento atual no desenvolvimento de vacinas contra o estafilococo e concluíram que apesar dos avanços, ainda não se dispõe de uma estratégia eficaz de imunização ativa ou passiva, embora existam algumas pesquisas promissoras. Para os autores, uma das razões desse insucesso é que o *S. aureus* faz parte da flora normal de seres humanos e este microrganismo desenvolveu diferentes mecanismos de evasão contra a resposta imune.

A partir das observações de que pacientes com deficiências no eixo de imunidade celular, por exemplo, portadores do vírus da imunodeficiência humana, ou com defeitos genéticos no STAT3 (Síndrome de Hiper-IgE), ou defeitos na função das células Th17 apresentam infecções recorrentes pelo *S. aureus*, acredita-se que

um eixo intacto da imunidade celular seja necessário para a formação de uma resposta de memória para esta bactéria (SPELLBERG e DAUM, 2011).

Considerando-se que os estudos com vacinas que utilizam um único componente antigênico não demonstraram eficácia em ensaios clínicos, WACKER *et al.* (2014) desenvolveram uma técnica promissora e inovadora de glicoengenharia para a criação de uma vacina de multicomponentes utilizando a *Escherichia coli* como vetor para a expressão dos genes de antígenos capsulares e proteicos de *S. aureus* enzimaticamente ligados. Essa técnica mantém a estrutura molecular na forma nativa, reduzindo a desnaturação de epítomos essenciais para a indução da resposta imune contra *S. aureus*. Esses autores conduziram o experimento em modelo animal, imunizando coelhos e camundongos com três tipos de vacinas glicoproteicas, duas delas com polissacarídeo capsular (PC5 ou PC8) conjugado com uma proteína carreadora (exoproteína A detoxificada de *Pseudomonas aeruginosa* [Epa] e uma terceira com o PC5 conjugado a alfa-toxina detoxificada de *S. aureus* (alfa-hemolisina) [Hla_{H35L}]), e os resultados mostraram que nos animais vacinados com PC5-Epa e PC8-Epa houve a produção de anticorpos opsonizantes e em camundongos demonstrou-se proteção contra bacteremia. Os camundongos vacinados com PC5-Hla foram protegidos contra bacteremia e pneumonia letal, proporcionando esta última, uma eficácia de amplo espectro contra doença invasiva por *S. aureus* (WACKER *et al.*, 2014).

ASENSI *et al.* (2013) em modelo animal de infecção peritoneal por cepa do *S. aureus* produtora de enterotoxina B demonstraram aumento da produção de IgA secretória e IgG anti-enterotoxina B com aumento da sobrevivência em ratos vacinados com vacina oral à base de cepas de *L. lactis* carreando SEB recombinante.

1.1 Justificativa

A transferência placentária e pelo leite humano de anticorpos é uma das estratégias para a proteção da criança contra doenças infecciosas no período neonatal e nos primeiros meses de vida.

O *Staphylococcus aureus* é um patógeno de importância médica pela ocorrência de infecções de elevado potencial de gravidade e de grande relevância imunológica pelas inúmeras oportunidades desde os primeiros dias de vida de interação deste patógeno com sistema imune inato e adquirido.

A colonização nasal desempenha papel importante na patogênese para a ocorrência da infecção e vem sendo explorada como sítio de indução de imunoglobulinas IgG, IgA e IgM séricas, bem como IgA secretória.

Espera-se que um melhor entendimento de como ocorre a transferência de anticorpos anti-*S. aureus* da mãe para o filho, por via transplacentária e/ou colostro possa contribuir para ampliar os conhecimentos na prevenção natural de quadros de infecção neonatal provocados por essa bactéria.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

2.1.1 Avaliar a transferência para o recém-nascido por via transplacentária e pelo colostro materno de anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus* em mães com narinas colonizadas e não colonizadas por este patógeno.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Identificar parturientes com colonização nasal pelo *S. aureus*.

2.2.2 Analisar a passagem transplacentária de anticorpos IgG total e anti-*S. aureus* em amostras pareadas de soro materno e de soro de cordão umbilical e comparar os níveis desses anticorpos entre grupos de parturientes com e sem colonização nasal pelo *S. aureus*.

2.2.3 Analisar a presença de anticorpos IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* em amostras pareadas de soro materno e de soro de cordão umbilical e comparar os níveis desses anticorpos entre grupos de parturientes com e sem colonização nasal pelo *S. aureus*.

2.2.4 Comparar os títulos de IgG1 com IgG2 anti-*S. aureus* em amostras pareadas de soro materno e de soro de cordão umbilical e comparar os níveis desses anticorpos entre grupos de parturientes com e sem colonização nasal pelo *S. aureus*.

2.2.5 Analisar a presença de anticorpos IgA total e anti-*S. aureus* nas amostras de colostro materno e comparar os níveis desses anticorpos entre grupos de parturientes com e sem colonização nasal pelo *S. aureus*.

- 2.2.6 Avaliar os índices de avidéz dos anticorpos IgG anti-*S. aureus* em amostras pareadas de soro materno e de soro de cordão umbilical e dos anticorpos IgA nas amostras de colostro materno e comparar os índices de avidéz entre grupos de parturientes com e sem colonização nasal pelo *S. aureus*.

3 MÉTODOS

Estudo de corte transversal de um grupo pareado de parturientes saudáveis com e sem colonização nasal pelo *S. aureus* e seus respectivos RN de termo, no período de agosto/2011 a setembro/2012.

3.1 Considerações éticas

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller, Protocolo 936/CEP-HUJM/2010. Foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPEsq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Protocolo de Pesquisa nº 316/11). Todas as participantes concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido após a apresentação minuciosa do projeto. Não houve nenhuma recusa.

3.2 Casuística

As parturientes foram selecionadas em dois hospitais maternidade (Hospital Santa Helena e Hospital Geral Universitário) no município de Cuiabá, capital de Mato Grosso (MT), localizado na região centro-oeste do Brasil, com 551.098 mil habitantes (IBGE, 2010).

3.3 Delineamento Experimental

Foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: gestantes saudáveis, ocorrência do parto entre sete e treze horas, gestação a termo, idade materna >20 anos, RN com Apgar >7 no quinto minuto, idade gestacional (IG) do RN ≥ 37 semanas e <42 semanas pelo método de Capurro somático.

Foram excluídas do estudo, as mães cujas placentas eram malformadas ou pequenas (abaixo de 200g); com patologias como diabetes, hipertensão arterial, doenças infectocontagiosas como infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), TORCHS (toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes simples e sífilis) e malária, e/ou doenças autoimunes (como lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide juvenil).

No período do estudo, todas parturientes elegíveis foram selecionadas para a entrevista, preenchimento da ficha de coleta de dados e de amostras para a pesquisa.

Após o resultado da cultura de *swab* nasal, a população foi dividida em dois grupos, segundo a positividade para *S. aureus*:

- a) Caso: parturientes com cultura de *swab* nasal positiva.
- b) Controle: parturientes com cultura de *swab* nasal negativa.

Para o estudo da imunidade passiva, foram selecionados 1 caso para 2 controles da amostra total. Os controles foram selecionados próximo da data da entrada do caso com cultura positiva.

Para a seleção das mães, foram realizadas as seguintes etapas:

- 1) Preenchimento da ficha de dados na sala do pré-parto, coleta do *swab* nasal e de 10 mL de sangue periférico materno em tubo com gel separador para pesquisa de anticorpos IgG totais e anti-*S. aureus*.

- 2) Coleta de 10 mL de sangue de cordão na sala de parto logo após a dequitação da placenta, em tubo com gel separador para pesquisa de anticorpos IgG totais e anti-*S. aureus*.
- 3) Coleta de colostro até 24 horas pós-parto, em tubo seco para pesquisa de anticorpos IgA totais e anti-*S. aureus*. A coleta foi feita no alojamento conjunto sempre no período matutino.

3.4 Isolamento e identificação do *S. aureus*

Para identificar a mãe carreadora de *S. aureus* foi coletado *swab* nasal com meio Stuart (Absorve[®]) e encaminhado ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário Júlio Müller (HUJM) para cultivo em meio seletivo ágar manitol salgado, incubado por 24 horas a 35°C. A identificação das unidades formadoras de colônias (UFC) de *S. aureus* e os testes de sensibilidade antimicrobiana por concentração inibitória mínima (CIM) foram realizados em método automatizado pelo equipamento modelo Vitek 2 (Biomérieux[®]).

3.5 Obtenção de amostras de sangue materno, sangue de cordão umbilical e de colostro

As amostras de sangue coletadas, 10 mL de sangue periférico materno e 10 mL de sangue de cordão, foram colocadas em tubos com gel separador e transportadas em caixa térmica com gelox ao Laboratório de Investigação da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) para separação do soro, onde foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos em uma temperatura de 4°C.

As amostras de colostro foram coletadas por ordenha manual, nas primeiras 24 horas após o parto e transportadas em caixa térmica com gelox para o Laboratório de Investigação da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), onde foram centrifugadas a 3.000 rpm por 30 minutos a 4°C para delipidação. A parte lipídica e o “pellet” contendo as células foram descartados.

Essas amostras de soro e de colostro foram aliquotadas, congeladas e armazenadas em freezer -80°C no Laboratório de Imunogenética da FM/UFMT. Posteriormente, foram transportadas em gelo seco por via aérea até o Laboratório de Investigação Médica (LIM-36) do Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICr/FMUSP).

3.6 Detecção de IgG total no soro materno e de cordão

A dosagem sérica de IgG total no soro materno e de cordão foi realizada no Cura Laboratório de Análises Clínicas Ltda, São Paulo, pelo método de imunoturbidimetria, no equipamento da Roche Integra 400, segundo instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em mg/dL, com valores de referência em adultos no intervalo de 700 a 1.600 mg/dL.

3.7 Detecção de IgA total no colostro

A IgA total do colostro foi avaliada por ensaio imunoenzimático (ELISA) conforme o método descrito por QUINELLO *et al.* (2010). Microplacas de 96 orifícios (3590, Costar, NY, USA) foram revestidas com 100 µL/orifício de anti-IgA humana (I-0884, Sigma, MO, USA) diluída em PBS pH 7,4 (concentração final de 5 µg/mL) e

incubadas em câmara úmida por 16 a 18 horas a 4°C. Em seguida, as placas foram lavadas 4 vezes com solução de PBS Tween-20 a 0,1% (PBS-T). As amostras foram diluídas em tampão PBS NaCl 0,35M Tween-20 a 0,2% e adicionadas às placas em duplicatas e em quatro diluições seriadas, onde permaneceram incubadas por 2 horas a 37°C. Em todos os ensaios, juntamente com as amostras, utilizou-se um padrão constituído de IgA de colostro (I-2636, Sigma, MO, USA) em concentrações variando entre 3,9 ng/mL a 250 ng/mL e o *pool* de colostro humano controle. Após as lavagens e posterior incubação do conjugado anti-IgA humano marcado com peroxidase (A-0295, α -chain specific, Sigma, MO, USA) por 90 minutos a 37°C e novas lavagens, foi adicionada a solução de substrato contendo 0,4 mg/mL de ortofenilenodiamina (P-8287, Sigma, MO, USA) em solução de citrato-fosfato 0,1M, pH 5,0 e água oxigenada (H₂O₂) 0,01%. Após 30 minutos, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico 2,5N e a leitura realizada em comprimento de onda de 492 nm (Labsystems, Finland). Utilizou-se o programa GraphPad Prism 5.0 (USA) para calcular os valores de cada teste. As concentrações de IgA total das amostras de colostro foram determinadas a partir dos valores da curva padrão de IgA de colostro e expressas em g/L.

3.8 Detecção de anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus*

Os anticorpos anti-*S. aureus* foram dosados pelo método imunoenzimático (ELISA), conforme o método descrito por CARBONARE *et al.* (1996) com algumas modificações, utilizando-se placas (3590, Costar, NY, USA) previamente adsorvidas com uma solução contendo uma concentração de *S. aureus* padronizada com uma densidade ótica (D.O.) de 0,8. O *S. aureus* utilizado foi a cepa ISA35, isolada da comunidade, de um dos casos da população em estudo.

Para as dosagens, no primeiro dia foram feitos repique da bactéria congelada, no segundo dia inativação das bactérias e adsorção nas placas e no terceiro dia, o ELISA com as amostras de soro materno, de soro de cordão ou colostro:

1º dia: Repique da bactéria

Em câmara de fluxo laminar, uma alíquota de 50 µL de *S. aureus* mantida em glicerol a 15% foi repicada em 10 mL de meio BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubada em estufa a 37°C por 16 a 18 horas.

2º dia: Inativação das bactérias e sensibilização das placas

Após o crescimento bacteriano, foi realizada a inativação das bactérias em banho-maria, 60°C por 1 hora. Em seguida, aguardou-se o resfriamento por 30 minutos. À seguir, centrifugou-se por 30 minutos a 3.000 rpm em temperatura ambiente. O meio BHI foi desprezado e o precipitado contendo as bactérias foi ressuspenso em solução de água destilada acrescida de EDAC (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride) a 1% e ajustada para uma densidade ótica padronizada de 0,8 em espectrofotômetro Micronal em filtro de 540nm. Essa solução foi utilizada para a sensibilização das placas de microtitulação com 96 orifícios, 100 µL/poço, cobrindo-se com filme de policloreto de vinila (PVC) e deixadas por 16 a 18 horas à 37°C em câmara úmida.

3º dia: Concentração de IgG e IgA anti-*Staphylococcus aureus* pelo método imunoenzimático (ELISA)

Anticorpos IgG do soro materno e do soro de cordão umbilical e anticorpos IgA do colostro reativos com *S. aureus* (bactérias inteiras) foram avaliados por ELISA, após padronização da técnica.

Foram utilizados dois *pools* controle nos testes realizados: um *pool* de soro humano controle, constituído por 12 amostras de soro de adultos doadores de

sangue saudáveis, dos sexos masculino e feminino e com resultados negativos nos testes sorológicos convencionais e um *pool* de colostro humano controle, constituído por 32 amostras de colostro de parturientes clinicamente saudáveis, ambos já disponíveis no laboratório.

Para o teste, as placas previamente sensibilizadas foram lavadas em cada etapa do teste 4 vezes com PBS Tween 20 0,1%. As placas foram, então, bloqueadas com 200µL/orifício de solução de PBS 7,4 acrescida de leite desnatado em pó a 1% por 1 hora. Em seguida, os *pools* de soro ou colostro humano controle e as amostras teste de soro ou colostro foram adicionados às placas em quatro diluições seriadas e em duplicata diluídas em tampão PBS NaCl 0,35M - Tween-20 0,2% acrescida de leite desnatado em pó a 10%, permanecendo por 2 horas a 37°C. Em seguida, as placas foram incubadas com os conjugados anti-IgG ou anti-IgA humanos marcados com peroxidase (A-0170 ou A-0295, Sigma, MO, USA) por 90 minutos a 37°C e a solução de substrato contendo 0,4 mg/mL de ortofenilenodiamina (P-8287, Sigma, MO, USA) em tampão citrato-fosfato 0,1M, pH 5,0 e H₂O₂ 0,01% foi adicionada. Após 30 minutos, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico 2,5N e a leitura realizada em comprimento de onda de 492 nm (Labsystems, Finland).

O programa GraphPad Prism 5.0 foi utilizado para montar curvas a partir das densidades ópticas obtidas dos *pools* de soro ou colostro humano. Os níveis de IgG ou IgA anti-*S. aureus* das amostras teste de soro e de colostro, respectivamente, foram expressos em unidades arbitrárias (UA/mL) obtidos por interpolação na curva padrão montada com os resultados das densidades ópticas dos *pools* de soro e colostro humano, que foram definidos como contendo 1.000 UA/mL de IgG e IgA reativos com *S. aureus*, respectivamente.

3.9 Detecção de anticorpos IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus*

A detecção dos anticorpos IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno e de cordão umbilical foi feita conforme já descrito anteriormente, porém com algumas modificações. As etapas de crescimento bacteriano, adsorção das bactérias às placas, bloqueio e adição das amostras foram realizadas do mesmo modo conforme descrito no item 3.8. Após lavagens, foram adicionados os anticorpos anti-IgG1 ou anti-IgG2 conjugados a biotina (cod. 555869 ou 555874, BD Pharmigen) ambos diluídos a 1:500 em mesmo tampão de diluição das amostras, por 90 minutos a 37°C. Após lavagens, foi adicionada a streptavidina conjugada a peroxidase (cod. 554066, BD Pharmigen) diluída a 1:500 no mesmo tampão por 90 minutos a 37°C. Após novas lavagens, a solução de substrato contendo 0,4 mg/mL de ortofenilenodiamina (P-8287, Sigma, MO, USA) em tampão citrato-fosfato 0,1M, pH 5,0 e H₂O₂ 0,01% foi adicionada. Após 30 minutos, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico 2,5N e a leitura realizada em comprimento de onda de 492 nm (Labsystems, Finland).

O programa GraphPad Prism 5.0 foi utilizado para calcular os resultados que foram expressos em títulos obtidos através da curva de regressão linear do log₂ da D.O. em função do log₂ da diluição para cada amostra. Definimos como título a recíproca da diluição da amostra correspondente a uma D.O. de 0,5. Optamos por expressar os resultados de subclasses em títulos porque, por meio desse cálculo, conseguimos comparar os resultados de IgG1 com os de IgG2 de cada amostra.

3.10 Detecção da Avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus*

Os testes de avidéz de anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus* foram feitos conforme já descrito anteriormente, porém com algumas modificações. As etapas de crescimento bacteriano, adsorção das bactérias às placas e bloqueio foram realizadas do mesmo modo conforme descrito no item 3.8. Após a adição das amostras de soro materno e de cordão umbilical, ou de colostro em uma só diluição e em duplicatas, e realizadas as lavagens, foi efetuada uma etapa a mais que consistiu na adição de solução de tiocianato de potássio diluído em e adicionado nas concentrações molares de 4M, 3M, 2M, 1M, 0,5M, 0,25M e 0,1M por 30 minutos a temperatura ambiente para eluição dos complexos antígeno-anticorpo formados (JONES *et al.*, 1987). Após 6 lavagens com PBS Tween 20 0,1%, a reação foi finalizada conforme descrito no item 3.8. Os resultados foram expressos como a molaridade de tiocianato de potássio necessária para eluir 50% dos complexos antígeno-anticorpo formados.

3.11 Análise Estatística

No presente trabalho, para síntese dos dados foi inicialmente realizado uma análise descritiva, por meio do cálculo de médias, medianas, desvios padrão. Para verificar a variabilidade dentro de cada grupo foram também calculados os intervalos de confiança. No intuito de se verificar possíveis diferenças entre grupos de estudo, bem como dentro dos próprios grupos, foram utilizados testes não paramétricos tais como: teste de Wilcoxon para diferenças entre medianas em amostras pareadas e teste de Mann-Whitney entre amostras não pareadas. Todos os testes estatísticos

foram realizados considerando limite de confiança de 95% e nível de significância $p<0,05$.

As taxas de transferência de anticorpos IgG expressas em porcentagem foram definidas como a razão entre a concentração de IgG no soro de cordão e a de IgG no soro materno, multiplicada por 100.

4 RESULTADOS

4.1 Características da amostra

Foram selecionadas 250 parturientes elegíveis para o estudo para a cultura de *swab* nasal. Destas, 49 foram positivas e inseridas no grupo caso, obtendo uma prevalência de colonização por *S. aureus* de 19,6%.

Foram selecionados 2 controles para cada caso perfazendo um total de 147 parturientes e seus respectivos RN, 49 casos e 98 controles.

4.1.1 Características demográficas da população do estudo

As características sociodemográficas e obstétricas das 147 mães segundo o estado de colonização nasal pelo *S. aureus* encontram-se listadas na Tabela 1.

Todas as parturientes fizeram pré-natal e apresentaram sorologias para TORCHS negativas no cartão tendo os resultados de sorologias para sífilis e vírus da imunodeficiência da rotina em sala de parto, negativas (Tabela 1).

Os grupos não diferiram quanto às médias da idade materna ou idade gestacional. A primariedade foi maior no grupo controle ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Também não houve diferenças dentre os grupos com relação à média do peso de nascimento dos recém-nascidos, o peso placentário e o número de cotilédones das placentas (Tabela 1).

Nas gestantes, utilizando-se a curva de ATALAH *et al.* (1997), a classificação pelo IMC para a idade gestacional, demonstrou no grupo caso 24,5 % das parturientes com baixo peso e 30,6 % no grupo controle (Apêndice 2).

Entre os grupos caso e controle a média de tempo de coleta do colostro após o parto não diferiu, tendo sido as amostras de colostro coletadas entre 17 e 24 horas após parto, sempre no período matutino (Apêndice 3).

Entre os grupos não houve diferenças quanto a renda familiar *per capita* mensal, estando a maioria da população deste estudo abaixo da linha de pobreza, considerada de meio salário mínimo (NUNES *et al.*, 2010) (Apêndice 4).

Tabela 1 - Características demográficas e obstétricas de parturientes (n=147) segundo o estado carregador nasal de *S. aureus*, Cuiabá-MT

Variáveis	Estado carregador nasal de <i>S. aureus</i>		
	Casos (n=49)	Controles (n=98)	p^y
Idade materna em anos (média)	24,3	25,1	0,3681
Idade gestacional em semanas (média)	39,1	39,1	0,8778
Primigesta (n; %)	9; 18,4%	35; 35,7%	0,0312
Peso de nascimento em gramas (média)	3.284,3	3.275,1	0,9836
Peso placentário em gramas (média)	635,1	643,8	0,8228
Número de cotilédones por placenta (média)	10,1	10,2	0,5964
Tempo de coleta de colostro (horas)	21,41	21,42	0,9754
Renda familiar <i>per capita</i> (salário mínimo)	0,45	0,48	0,5606

n=número; g=gramas. ^yTeste de Mann-Whitney.

4.2 Concentrações séricas de IgG total

Os resultados das concentrações de IgG total nas amostras de soro materno e de cordão umbilical de seus respectivos RN dos grupos caso e controle estão representados na Tabela 2 e Figura 2.

No grupo caso, a mediana das concentrações de IgG total nas amostras de soro materno não diferiu quando comparada com a de seus respectivos RN

No grupo controle, detectou-se diferença significativa entre a mediana das concentrações de IgG total do soro materno e a de seus respectivos RN ($p<0,0001$).

Tabela 2 - Análise estatística descritiva das concentrações de IgG total (mg/dL) em pares de amostras de soro materno e de cordão umbilical de seus respectivos recém-nascidos dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG total (mg/dL)			
	Soro materno		Soro de cordão umbilical	
	^{α§} Grupo caso (n=49)	^{β§} Grupo controle (n=98)	^{α¥} Grupo caso (n=49)	^{β¥} Grupo controle (n=98)
Média	1.053	952	1.083	1.095
Mediana	1.069	939	1.034	1.041
DP	217	221	195	255
Mínimo	599	275	666,00	689
Máximo	1.626	1.704	1.525	2.200
IC 95%	991-1.116	907-996	1.027-1.138	1.044-1.146

Teste de Wilcoxon, ^α $p > 0,5$; ^β $p < 0,0001$.

Teste de Mann-Whitney, [§] $p < 0,05$; [¥] $p > 0,5$.

DP=Desvio padrão; IC=Intervalo de confiança.

Figura 2 - Concentrações de IgG total (mg/dL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso (n=49) e controle (n=98). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar a mediana das concentrações de IgG total entre soro materno e de cordão. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar a mediana das concentrações de IgG total entre os soros maternos e entre os soros dos cordões. As linhas em vermelho representam a mediana.

A mediana das concentrações de anticorpos IgG total nas amostras de soro materno do grupo caso foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada com

amostras de soro materno do grupo controle Nas amostras de soro de cordão umbilical, não houve diferença na mediana das concentrações de anticorpos IgG total entre os RN do grupo caso e grupo controle

A mediana da taxa de transferência placentária de IgG total (%) do grupo caso foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparada à taxa de transferência placentária do grupo controle (Tabela 3 e Figura 3).

Tabela 3 - Taxa de transferência placentária de IgG total (%) dos grupos caso e controle para seus recém-nascidos

Estatística descritiva	Taxa de transferência placentária de IgG total (%)	
	§Grupo caso (n=49)	§Grupo controle (n=98)
Média	105,8	119,3
Mediana	100,9	114,1
Desvio padrão	23,8	33,0
Mínimo	62,1	76,7
Máximo	176,3	310,2
IC 95%	98,9-112,6	112,6-125,9

§Teste de Mann-Whitney $p < 0,05$; IC=Intervalo de confiança.

Figura 3 - Taxa de transferência placentária de IgG total (%) para os recém-nascidos dos grupos caso e controle. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box-plot* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.3 Concentrações séricas de IgG anti-*S. aureus*

Na Tabela 4 e Figura 4 estão representados os resultados das concentrações de IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno e de seus respectivos RN dos grupos caso e controle.

No grupo caso, a comparação entre as amostras de soro materno e de cordão revelou concentrações de IgG anti-*S. aureus* significativamente mais elevadas nas amostras de soro materno em relação aos seus respectivos RN ($p<0,0001$). O mesmo foi observado no grupo controle ($p<0,0001$).

Entre as amostras de soro materno, não houve diferença na mediana das concentrações de anticorpos IgG anti-*S. aureus* de mães do grupo caso e grupo controle.

Nas amostras de soro de cordão umbilical, não houve diferença entre a mediana das concentrações de anticorpos IgG anti-*S. aureus* dos RN do grupo caso e dos RN do grupo controle.

Tabela 4 - Análise estatística descritiva das concentrações de IgG anti-*S. aureus* (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos nos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL)			
	Grupo caso		Grupo controle	
	^{α§} Mãe (n=49)	^{α¥} Cordão umbilical (n=49)	^{β§} Mãe (n=98)	^{β¥} Cordão umbilical (n=98)
Média	522,3	348,6	494,6	368,8
Mediana	317,0	224,7	317,4	264,7
DP	543,6	366,5	425,3	301,2
Mínimo	47,3	99,5	35,3	163,2
Máximo	2.410	1.798	2.575	1.458
IC 95%	366,6-678,8	243,3-453,8	409,4-579,9	308,4-429,2

Teste de Wilcoxon, ^α $p<0,0001$; ^β $p<0,0001$

Teste de Mann-Whitney, [§] $p>0,71$; [¥] $p>0,21$.

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de confiança.

Figura 4 - Concentrações de IgG anti-*S. aureus* (UA/mL) nas amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos nos grupos caso ($n=49$) e controle ($n=98$). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar os níveis de IgG anti-*S. aureus*. As linhas representam a mediana.

A mediana da taxa de transferência placentária de IgG anti-*S. aureus* (%) do grupo caso (69,50%) foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparada à taxa de transferência placentária do grupo controle (81,30%) (Tabela 5 e Figura 5).

Tabela 5 - Taxa de transferência placentária de IgG anti-*S. aureus* (%) dos grupos caso e controle para seus respectivos recém-nascidos

Estatística descritiva	Taxa de transferência placentária de IgG anti- <i>S. aureus</i> (%)	
	Grupo caso ($n=49$)	Grupo controle ($n=98$)
Média	70,9	83,7
Mediana	69,5	81,3
DP	18,95	31,95
Mínimo	34,6	7,4
Máximo	140,0	221,4
IC 95%	65,5 - 76,35	77,3 - 90,15

DP=Desvio Padrão; IC = Intervalo de confiança.

§Teste de Mann-Whitney $p < 0,05$; IC=Intervalo de confiança.

Figura 5 - Taxa de transferência placentária de IgG anti-*S. aureus* (%) nas amostras dos grupos caso e controle. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.3.1 Títulos séricos de IgG1 *anti-S. aureus*

Nos grupos caso e controle foram detectadas diferenças significativas entre a mediana dos títulos de IgG1 anti-*S. aureus* do soro materno e a de seus respectivos RN ($p<0,001$ e $p<0,0001$, respectivamente) (Tabela 6 e Figura 6).

A mediana dos títulos de anticorpos IgG1 anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno do grupo caso foi significativamente menor ($p<0,01$) quando comparada às amostras de soro materno do grupo controle. O mesmo foi observado para os títulos de anticorpos IgG1 anti-*S. aureus* entre as amostras de soro de cordão umbilical dos RN do grupo caso e grupo controle ($p<0,05$) (Tabela 6 e Figura 6).

Tabela 6 - Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 anti-*S. aureus* em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG1 anti- <i>S. aureus</i> (Título)*			
	Grupo caso		Grupo controle	
	^{α§} Mãe (N=25)	^{α¶} Cordão umbilical (N=25)	^{β§} Mãe (N=44)	^{β¶} Cordão umbilical (N=44)
Média	5	9	9	13
Mediana	3	7	8	15
DP	5	7	5	6
Mínimo	1	1	2	2
Máximo	17	19	20	27
IC 95%	3-7	6-12	7-10	11-15

*O título representa a diluição da amostra necessária para a obtenção de uma D.O. de 0,5 no teste de ELISA.

Teste de Wilcoxon, ^α $p < 0,001$; ^β $p < 0,0001$.

Teste de Mann-Whitney, [§] $p < 0,01$; [¶] $p = 0,05$.

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de confiança.

Figura 6 - Títulos de IgG1 anti-*S. aureus* (UA/mL) em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso (n=25) e controle (n=44). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar as medianas dos títulos entre as amostras de soro materno e de cordão. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar a mediana dos títulos entre as amostras de soro materno e entre as amostras de soro de cordão. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.3.2 Títulos séricos de IgG2 anti-*S. aureus*

No grupo caso, a mediana dos títulos de IgG2 anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno foi significativamente maior do que de seus respectivos RN ($p<0,05$). No grupo controle, também foi detectada diferença significativa entre a mediana dos títulos de IgG2 anti-*S. aureus* do soro materno e a de seus respectivos RN ($p<0,0001$) (Tabela 7 e Figura 7).

Comparando-se as amostras de soro materno, não foi detectada diferença da mediana dos títulos de anticorpos IgG2 anti-*S. aureus* entre mães do grupo caso e grupo controle, o mesmo sendo observado na comparação das amostras dos RN entre os dois grupos (Tabela 7 e Figura 7).

Tabela 7 - Análise estatística descritiva dos títulos de IgG2 anti-*S. aureus* em amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG2 anti- <i>S. aureus</i> (Título)*			
	Grupo caso		Grupo controle	
	^{α§} Mãe (n=18)	^{α¥} Cordão umbilical (n=18)	^{β§} Mãe (n=42)	^{β¥} Cordão umbilical (n=42)
Média	1.079	889	1.537	1.215
Mediana	1.103	1.002	1.431	1.118
DP	515	562	898	858
Mínimo	283	213	301	200
Máximo	1.871	1.848	3.689	3.303
IC 95%	823-1.335	600-1.178	1.257-1.817	947-1.482

*O título representa a diluição da amostra necessária para a obtenção de uma D.O. de 0,5 no teste de ELISA.

Teste de Wilcoxon, ^α $p<0,05$; ^β $p<0,0001$

Teste de Mann-Whitney, [§] $p>0,05$; [¥] $p>0,05$.

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de confiança.

Figura 7 - Títulos de IgG2 anti-*S. aureus* (UA/mL) nas amostras de soro materno e de cordão umbilical de recém-nascidos nos grupos caso (n=18) e controle (n=42). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar as medianas dos títulos entre as amostras de soro materno e de cordão. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.3.3 Comparação entre os títulos de anticorpos IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus*

A dosagem e representação dos resultados de anticorpos IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* em títulos, ao contrário do que foi mostrado para IgG anti-*S. aureus*, que foi apresentada em UA/mL, nos permitiu realizar comparações entre os níveis dessas diferentes subclasses de anticorpos nas diferentes amostras.

Os resultados mostraram que os títulos de anticorpos IgG1 anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno do grupo caso e do grupo controle foram significativamente menores quando comparados aos títulos de IgG2 anti-*S. aureus* ($p < 0,0001$) (Tabela 8 Figura 8).

Tabela 8 - Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 e IgG2 *anti-S. aureus* em amostras de soro materno dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG1 e IgG2 materno <i>anti-S. aureus</i> (Título)			
	Grupo caso		Grupo controle	
	$^{\alpha}$ IgG1 (n=25)	$^{\alpha}$ IgG2 (n=18)	$^{\beta}$ IgG1 (n=44)	$^{\beta}$ IgG2 (n=42)
Média	5	1.079	9	1.537
Mediana	3	1.103	8	1.431
DP	5	515	5	898
Mínimo	1	283	2	301
Máximo	17	1.871	20	3.689
IC 95%	3-7	823-1.335	7-10	1.257-1.817

Teste de Mann-Whitney, $^{\alpha}p < 0,0001$; $^{\beta}p < 0,0001$.

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de Confiança.

Figura 8 - Títulos de IgG1 e IgG2 *anti-S. aureus* nas amostras de soro materno dos grupos caso e controle. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar as medianas dos títulos de IgG1 e IgG2 *anti-S. aureus* entre as amostras maternas. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

O mesmo perfil foi observado na análise das amostras dos recém-nascidos. As medianas dos títulos de anticorpos IgG1 *anti-S. aureus* nas amostras de soro de cordão umbilical dos RNs do grupo caso e controle foram significativamente

menores quando comparadas às medianas dos títulos de anticorpos de IgG2 anti-*S. aureus* ($p < 0,0001$) (Tabela 9 e Figura 9).

Tabela 9 - Análise estatística descritiva dos títulos de IgG1 e IgG2 *anti-S. aureus* em amostras de soro de cordão umbilical dos RN dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgG1 e IgG2 neonatal anti- <i>S. aureus</i> (Título)			
	Grupo caso		Grupo controle	
	α IgG1 (n=25)	α IgG2 (n=18)	β IgG1 (n=44)	β IgG2 (n=42)
Média	9	889	13	1.215
Mediana	7	1.002	15	1.118
DP	7	562	6	858
Mínimo	1	213	2	200
Máximo	19	1.848	27	3.303
IC 95%	6-12	600-1.178	11-15	947-1.482

Teste de Mann-Whitney $\alpha\beta p < 0,0001$;
DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de confiança.

Figura 9 - Títulos de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* nas amostras de soros de cordão umbilical dos RN dos grupos caso e controle. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar as medianas dos títulos de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* entre as amostras de soro de cordão. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.3.4 Taxa de transferência placentária de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus*

A mediana da taxa de transferência placentária, para os RN, de anticorpos IgG1 anti-*S. aureus* no grupo caso não diferiu quando comparada com a do grupo controle. O mesmo foi observado para IgG2 anti-*S. aureus*, onde as medianas das taxas de transferência placentária não diferiram entre o grupo caso (65,60%) e grupo controle (77,95%) (Tabela 10 e Figura 10).

Por outro lado, no grupo caso, detectou-se diferença significativa ($p < 0,001$) entre as medianas de taxa de transferência placentária de IgG1 anti-*S. aureus* e de IgG2 anti-*S. aureus*. O mesmo foi observado para o grupo controle, no qual se detectou diferença significativa ($p < 0,0001$) entre as medianas das taxas de transferência placentária de IgG1 anti-*S. aureus* e de IgG2 anti-*S. aureus* (Tabela 10 e Figura 10).

Tabela 10 - Taxa de transferência placentária (%) de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* dos grupos caso e controle para seus respectivos recém-nascidos

Estatística descritiva	Taxa de transferência placentária de IgG1 anti- <i>S. aureus</i> (%)		Taxa de transferência placentária de IgG2 anti- <i>S. aureus</i> (%)	
	^{α§} Grupo caso (n=25)	^{α¥} Grupo controle (n=44)	^{β§} Grupo caso (n=18)	^{β¥} Grupo controle (n=42)
Média	289,9	205,3	75,4	79,8
Mediana	145,5	139,6	69,4	77,95
Desvio padrão	313,1	174,9	32,7	79,8
Mínimo	100,0	90,0	27,2	16,2
Máximo	1400	950,0	160,2	186,9
IC 95%	160,7-419,2	152,1-258,5	58,6-92,2	70,3-89,3

^αTeste de Mann-Whitney $p > 0,05$; ^βTeste de Mann-Whitney $p > 0,05$.

[§]Teste de Wilcoxon $p < 0,001$; [¥]Teste de Wilcoxon $p < 0,0001$.

IC= Intervalo de confiança.

Figura 10 - Taxa de transferência placentária (%) de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* nas amostras dos grupos caso e controle. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.4 Concentrações de IgA total em colostro

Para o estudo de passagem de IgA pelo colostro materno foram utilizadas 45 amostras de colostro do grupo de casos e 98 amostras de colostro do grupo de controles. Dentre os casos, uma (1/49) amostra foi excluída do estudo por apresentar IgA total de 6 mg/dL tendo sido a mãe e seu filho encaminhados para investigação clínica e não tendo sido detectado alteração na imunidade de ambos mãe e RN. Foram também excluídas amostras de três parturientes (3/49) devido a quantidade insuficiente de colostro no horário pré-determinado pelo desenho do estudo, totalizando 4 perdas de amostras (4/49), ou seja, uma perda de 8,12% dentre no grupo caso. Para a dosagem de IgA anti-*S.aureus*, no grupo controle foi excluída uma (1/98) amostra, representando 1% de perda no grupo controle, por ter apresentado valor discrepante de anticorpos IgA anti-*S.aureus* (146.883 UA/mL) em relação as demais.

A mediana das concentrações de anticorpos IgA totais nas amostras de colostro do grupo caso ($163,3 \pm 106,6$ g/L) foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada com o grupo controle ($125,7 \pm 81,3$ g/L) (Tabela 11 e Figura 11).

Tabela 11 - Estatística descritiva das concentrações de IgA total em amostras de colostro dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgA total (g/L)	
	§Grupo caso (n=45)	§Grupo controle (n=98)
Média	184,2	142,0
Mediana	163,3	125,7
Desvio padrão	106,6	81,3
Mínimo	17,85	14,50
Máximo	378,6	443,4
IC 95%	152,2-216,2	125,8-158,3

§Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$, comparação entre as medianas das concentrações de IgA total das amostras de colostro entre caso e controle.

IC=Intervalo de confiança

Figura 11 - Distribuição das concentrações de IgA total (g/L) nas amostras de colostro dos grupos caso e controle. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os níveis de IgA total. As linhas representam a mediana e intervalo interquartil (percentis 25 e 75).

4.5 Concentrações de IgA anti-*S. aureus* em colostro

Nas amostras de colostro, não houve diferença entre a mediana das concentrações de anticorpos IgA anti-*S. aureus* do grupo de caso (4019 ± 7573 UA/mL) e grupo controle (5224 ± 7481 UA/mL) (Tabela 12 e Figura 12).

Tabela 12 - Concentrações de IgA anti-*S. aureus* em amostras de colostro dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	IgA anti- <i>S. aureus</i> (UA/mL)	
	§Grupo caso (n=45)	§Grupo controle (n=97)
Média	5.385	9.235
Mediana	4.019	5.224
Desvio padrão	5.453	7481
Mínimo	668,5	250,4
Máximo	30.809	36.938
IC 95%	3.747-7.024	6.309-9324

§Teste de Mann-Whitney, $p > 0,05$ comparação entre as medianas da concentração de IgA anti-*S. aureus* em amostras de colostro entre grupos caso e controle.

Figura 12 - Distribuição das concentrações de IgA anti-*S. aureus* (UA/mL) nas amostras de colostro dos grupos caso (n=45) e controle (n=97). O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os níveis de IgA anti-*S. aureus*. As linhas representam a mediana e intervalo interquartil (percentis 25 e 75).

4.6 Avidéz de anticorpos IgG anti-*S. aureus* em amostras pareadas de soro materno e de cordão

Na Tabela 13 e Figura 13 estão representados os resultados dos índices de avidéz de anticorpos IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno e de seus respectivos RN dos grupos caso e controle. Foram testadas 17 amostras pareadas de soro materno e de cordão do grupo caso e 18 amostras pareadas do grupo controle.

No grupo caso, a mediana dos índices de avidéz de IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno não diferiu quando comparada com a de seus respectivos RN. O mesmo foi observado para o grupo controle.

Entre as amostras de soro materno, ou entre as amostras de cordão dos dois grupos não foram observadas diferenças nas medianas dos índices de avidéz de IgG anti-*S. aureus*.

Tabela 13 – Índices de avidéz dos anticorpos IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno e de seus respectivos RN dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	Índice de avidéz de IgG anti- <i>S. aureus</i> (M)			
	Soro materno		Soro de cordão umbilical	
	^α § Grupo caso (n=17)	^β § Grupo controle (n=18)	^α ¥ Grupo caso (n=17)	^β ¥ Grupo controle (n=18)
Média	1,5	1,6	1,5	1,6
Mediana	1,4	1,5	1,3	1,2
DP	0,6	0,7	0,6	0,7
Mínimo	0,9	0,7	0,9	0,8
Máximo	3,5	3,7	2,9	3,2
IC 95%	1,2-1,9	1,3-1,9	1,2-1,8	1,2-1,9

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de confiança.

Figura 13 - Índices de avidéz dos anticorpos IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno e de seus respectivos RN dos grupos caso (n=17) e controle (n=18). O teste de Wilcoxon foi usado para comparar as medianas dos índices de avidéz entre as amostras de soro materno e de cordão. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar a mediana dos índices de avidéz entre as amostras de soro materno e entre as amostras de soro de cordão. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.7 Avidéz de anticorpos IgA anti-*S. aureus* em amostras de colostro

Na Tabela 14 e Figura 14 estão representados os resultados dos índices de avidéz de anticorpos IgA anti-*S. aureus* nas amostras de colostro materno dos grupos caso e controle. Foram testadas 17 amostras pareadas de colostro materno de ambos os grupos.

A análise demonstrou que não existem diferenças significativas nos índices de avidéz de anticorpos IgA anti-*S. aureus* nas amostras de colostro materno entre os grupos caso e controle.

Tabela 14 – Índices de avidéz dos anticorpos IgA anti-*S. aureus* nas amostras de colostro materno dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	Índice de avidéz de IgA anti- <i>S. aureus</i> (M)	
	[§] Grupo caso (n=17)	[§] Grupo controle (n=17)
Média	2,4	2,3
Mediana	2,5	2,3
Desvio padrão	0,7	0,4
Mínimo	1,3	1,2
Máximo	4,0	2,8
IC 95%	2,0-2,8	2,0-2,5

[§]Teste de Mann-Whitney, $p>0,05$, comparação entre as medianas da avidéz de IgA anti-*S. aureus* em amostras de colostro entre grupos caso e controle.

Figura 14 - Índices de avidéz dos anticorpos IgA anti-*S. aureus* nas amostras de colostro materno dos grupos caso (n=17) e controle (n=17). O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar a mediana dos índices de avidéz entre as amostras de colostro materno. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

4.8 Comparação entre os índices de avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus* do soro e colostro materno

Os resultados mostraram que os índices de avidéz de anticorpos IgG anti-*S. aureus* nas amostras de soro materno foram significativamente menores quando

comparados aos índices de avidéz de anticorpos IgA anti-*S. aureus* das amostras de colostro, tanto do grupo caso, como do grupo controle ($p < 0,01$) (Tabela 15, Figura 15).

Tabela 15 - Índices de avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus* nas amostras de soro e colostro materno dos grupos caso e controle

Estatística descritiva	Índice de avidéz de IgG e IgA anti- <i>S. aureus</i> (M)			
	Grupo caso		Grupo controle	
	$^{\alpha}$ IgG (n=17)	$^{\alpha}$ IgA (n=17)	$^{\beta}$ IgG (n=18)	$^{\beta}$ IgA (n=17)
Média	1,5	2,4	1,6	2,3
Mediana	1,4	2,5	1,5	2,3
DP	0,6	0,7	0,7	0,4
Mínimo	0,9	1,3	0,7	1,2
Máximo	3,5	4,0	3,7	2,8
IC 95%	1,2-1,9	2,0-2,8	1,3-1,9	2,0-2,5

Teste de Wilcoxon, $^{\alpha}p < 0,01$; $^{\beta}p < 0,01$.

DP=Desvio Padrão; IC= Intervalo de Confiança.

Figura 15 - Índices de avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus* nas amostras de soro e colostro materno dos grupos caso e controle. O teste de Wilcoxon foi usado para comparar as medianas dos índices de avidéz entre as amostras de soro e de colostro materno. As linhas centrais do *box-plot* representam a mediana, as linhas sólidas do *box* representam os percentis 75 e 25, e as linhas curtas externas no topo e na base da caixa representam os valores máximo e mínimo, respectivamente.

5 DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizada a avaliação da aquisição passiva de anticorpos maternos IgG via transplacentária e IgA via colostro reativos ao *S. aureus* em mães com e sem colonização nasal por esta bactéria no momento do parto.

A avaliação de anticorpos anti-*S. aureus* envolveu um grande número de experimentos de ELISA, para a padronização do método, no intuito de realizar o estudo com a bactéria inteira. Estes experimentos compreenderam desde estabelecimento de meios nutritivos, tempos de incubação e condições adequadas para o crescimento da bactéria, o mesmo ocorrendo para a sua inativação e adsorção às placas para a realização do ensaio. Trabalho paralelo e não objeto deste estudo foi a avaliação da biometria materna e placentária e estudo microbiológico da colonização nasal, utilizados neste momento apenas para a caracterização da população para o estudo imunológico em grupos caso e controle.

A realização de todos os experimentos citados acima proporcionou um grande desafio principalmente na obtenção do volume necessário de colostro para a realização dos ensaios, pelo tempo de coleta previamente estabelecido de até 24 horas após parto, sempre no período matutino, afim de que não houvesse interferência de estímulos hormonais circadianos e ou nível de stress diferenciado entre as mães do estudo.

Os critérios acima para a coleta do colostro e os de inclusão e exclusão para o estudo delimitaram que fossem partos que ocorressem no período matutino e contribuíram para o tempo prolongado de coleta das amostras em um ano. O tempo necessário para a padronização da técnica de anticorpos anti-*S. aureus* foi de sete meses e após a qualificação foram incluídos ensaios não previstos inicialmente para esta pesquisa, tais como subclasses de IgG e ensaios de avidéz, todos também a

serem padronizados. O estudo das subclasses foi realizado com metade das amostras, posto que na padronização houve a necessidade, devido aos elevados títulos de IgG2 em relação aos de IgG1, de aumento do consumo de reagentes, o que impossibilitou o restante das análises das subclasses de IgG anti-*S. aureus*, tendo sido analisados, até o momento, pouco mais de 50% das amostras.

Todas as mães selecionadas para o presente estudo estavam em trabalho de parto espontâneo e não foram analisadas diferenças entre as dosagens em relação ao tipo de parto, pois no presente estudo somente 5 parturientes (número muito pequeno para análise estatística) foram encaminhadas para parto cesárea, sendo duas no grupo caso e 3 no grupo controle. Todavia, não tem sido descrito diferenças nos níveis de IgG transferidas via placentária por tipo de parto (PALMEIRA *et al.*, 2012).

Vale ressaltar que foram colhidas 251 amostras maternas e de sangue de cordão umbilical, destas apenas um recém-nascido internou na UTI neonatal com 20 horas de vida devido a cianose, tendo sido diagnosticado cardiopatia congênita e, portanto, foi excluído desta pesquisa.

No presente estudo, a prevalência de colonização nasal por *S. aureus* das parturientes saudáveis foi de 19,6% (49/250), mais elevada que a encontrada por CHATZAKIS *et al.* (2011) de 15,4%.

Um estudo realizado em nove países da Europa, que avaliou a prevalência de *S. aureus* com coleta de *swab* nasal em adultos saudáveis, revelou grande variabilidade na detecção da bactéria entre os povos europeus, sugerido participação de fatores étnicos relacionados à colonização pelo *S. aureus*. Os autores demonstraram prevalência geral de 21,6% e baixa detecção nasal de cepas resistentes a metilicina, não excedendo a 2,1%, entre os países analisados (den HEIJER *et al.*, 2013).

De modo geral, os estudos sugerem que o sucesso da adesão, que consiste na etapa inicial da colonização, depende da combinação correta de variações de proteínas conhecidas como adesinas (proteínas que estão envolvidas na ligação inicial da bactéria à célula no tecido do hospedeiro e são referidas pelo acrônimo *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* - MSCRAMM) com a expressão adequada de ligantes no hospedeiro (JOHANNESSEN *et al.*, 2012). Há, portanto, diferenças estatísticas de colonização entre as comunidades secundárias aos tipos de adesinas expressas pelas cepas prevalentes no meio, bem como as variações genéticas populacionais na expressão dos ligantes para o *S. aureus* no epitélio nasal.

No presente estudo apenas um caso, 0,4%, apresentou uma cepa MRSA, resistente à oxacilina, entre as 250 culturas de *swab* nasal. PATEL e KAUFMAN (2011), em comunidade na qual a ocorrência de carreadores nasais de cepas resistentes era estimada ser 7%, encontrou em parturientes, uma prevalência de 2% de cepas resistentes, que embora considerada baixa, é maior que a encontrada neste estudo.

A taxas de resistência à oxacilina têm sido relacionadas, além das diferenças entre os inúmeros fatores associados à colonização nasal nas diferentes populações, à pressão do uso de antibióticos e mudanças na microbiota nasal induzidas por vacinas (JOHANNESSEN *et al.*, 2012; LIJEK *et al.*, 2012), não tendo sido este o objetivo do presente estudo.

Não existe consenso para a descolonização de adultos com cepas resistentes, com exceção das populações de risco (SIMOR, 2011). Considerando o risco de infecção para o lactente, a descolonização do caso MRSA foi realizada com mupirocina tópica, duas vezes ao dia, por 7 dias e orientadas as medidas intensivas de higiene, como a lavagem das mãos e limpeza rigorosa dos utensílios. A

descolonização foi confirmada por novo controle de *swab* nasal de ambos, mãe e filho, que resultou negativo duas semanas após o tratamento. A monitorização da mãe e da criança foi mantida com *swab* nasal e ambas não apresentaram infecções relacionadas ao *S. aureus* até o encerramento deste estudo.

A população do presente estudo apresentou semelhanças sociodemográficas entre casos e controles. Quanto às características obstétricas, a primiparidade ocorreu em 29,9% (44/147) das parturientes, estando maior no grupo controle. Uma vez que em crianças a prevalência de colonização nasal é maior que em adultos (VERKAIK *et al.*, 2010b; den HEIJER *et al.*, 2013), a primiparidade pode estar associada a menor exposição da gestante à bactéria no ambiente domiciliar.

Na população deste estudo, 8,84% (13/147) das parturientes tiveram valores de IgG abaixo dos níveis da normalidade em adultos sendo que, em 12 destes casos, a redução não esteve inferior a 25% do valor considerado normal para faixa etária o que pode ter sido influenciado, entre outros, pela hemodiluição presente nos estágios finais da gestação. O padrão de referência utilizado para avaliação das concentrações séricas de IgG total na análise das amostras de soro materno, se refere a padrão estabelecido para adultos saudáveis, não havendo valor de referência para IgG para a população feminina durante a gestação (ENGLUND, 2007).

No presente estudo, detectou-se concentração significativamente maior de IgG total nos soros maternos do grupo caso em relação ao grupo controle.

Nas amostras de sangue de cordão umbilical as concentrações de IgG total foram semelhantes entre os grupos caso e controle, com taxa de transferência placentária menor de IgG no grupo caso.

Para anticorpos IgG total, estes resultados vem de encontro com a literatura vigente que descreve em gestações saudáveis e à termo taxas de transferência

placentária positiva de IgG para o recém-nascido. Este fenômeno tem sido descrito como decorrente do transporte transplacentário da IgG que ocorre por mecanismo de transcitose por meio da ligação da IgG ao receptor FcRn à nível placentário, sendo este um mecanismo pH dependente, o que permite que a transferência ocorra mesmo contra um gradiente de concentração (ENGLUND, 2007; ROOPENIAN e AKILESH, 2007; ELLINGER e FUCHS, 2012).

Comparativamente mães com níveis mais altos de IgG apresentam taxas de transferência placentária menores quando comparadas a mães com títulos mais baixos, decorrentes do fenômeno de saturação de receptores FcRn que em solução apresentam estequiometria na razão de 2 moléculas do receptor para cada 1 molécula de IgG transcitada a nível placentário (ENGLUND, 2007; ROOPENIAN e AKILESH, 2007; ELLINGER e FUCHS, 2012).

No presente estudo, observou-se concentrações elevadas de IgG anti-*S. aureus* em soros maternos, não tendo sido detectada diferença entre os grupos caso e controle.

Em estudo animal e em humanos observou-se uma extensa diversidade na resposta individual para anticorpos anti-*S. aureus* (VERKAİK *et al.*, 2010a; van den BERG, 2011) e não foi encontrada associação entre o estado carreador nasal da bactéria e níveis de anticorpos anti-estafilococos no soro (van den BERG *et al.*, 2011; BURIAN *et al.*, 2012).

HARRISON *et al.* (2008) observaram que em gestantes saudáveis que carreavam cepas produtoras de toxinas de *S. aureus* em narinas e/ou intestino, em estágio tardio da gestação, o carregamento desta bactéria não esteve associado com níveis de anticorpos maternos mais elevados quando comparados com aquelas que não carreavam a bactéria. Estes autores detectaram níveis variáveis em sangue de cordão e IgA em leite de até 7 dias após o nascimento de IgG específica para as

toxinas estafilocócicas sendo que, em algumas crianças, encontraram ausência de anticorpos dirigidos as toxinas expressas pela cepa de *S. aureus*, o que poderia levar a um risco maior para ocorrência de doenças induzidas pelas toxinas do *S. aureus* nesta população.

O fato de que ambos os grupos apresentaram índices mais baixos de transferência placentária de anticorpos anti-estafilococos do que o esperado para um ensaio realizado com bactérias inteiras, nos levou a ampliar o nosso conhecimento sobre a natureza dos anticorpos reativos com esta bactéria, por meio da avaliação das subclasses de IgG específicas transferidas da mãe para o recém-nascido e da avidéz dos anticorpos IgG e IgA anti-*S. aureus*.

Sabe-se que a ligação entre o receptor FcRn e a região CH2-CH3 da molécula de IgG ocorre por reação de resíduos de histidina em pH tituláveis entre 6.5 e 6.0 e estes diferem entre os vários isotipos e subclasses, o que contribui para transcitose isolada de IgG placentária em relação aos demais isotipos, bem como pela diferença na passagem das subclasses de IgG (ROOPENIAN e AKILESH, 2007).

Embora a avidéz seja uma característica relacionada com a porção Fab da molécula de IgG, tem sido sugerido que anticorpos com maior avidéz apresentem uma maior passagem pela barreira placentária por mecanismo ainda não elucidado e talvez relacionada a espécie-específica (HANSON E SILVERDAL, 2009; PALMEIRA *et al.*, 2012).

No presente estudo, os ensaios de avidéz de anticorpos IgG anti-*S. aureus* apresentaram resultados semelhantes nos grupos caso e controle, corroborando como dito anteriormente sobre a colonização isolada com epitélio íntegro, e os anticorpos reativos com *S. aureus* serem decorrentes de encontros infecciosos no decorrer da vida.

No homem, a imunidade adquirida para bactérias extracelulares gram-positivas é mediada principalmente pela opsonofagocitose com participação dos anticorpos específicos para os polissacarídeos capsulares (PC) e tem sido uma boa estratégia antigênica para a indução de imunidade vacinal em bactérias capsuladas. Cerca de 70% a 80% das cepas de *S. aureus* produzem um dos dois antígenos capsulares, CP5 ou CP8 e, mais de 90% destas, também produz outro polissacarídeo de superfície, a poli-N-acetil glucosamina (PNAG). Há evidências de que quando presentes, anticorpos dirigidos a antígenos polissacarídicos capsulares e PNAG, estes se liguem um ao outro, via uma interação idiótipo–anti-idiótipo, o que pode contribuir para a falta de imunidade eficaz após infecções por *S. aureus* em seres humanos (SKURNIK *et al.*, 2010).

Acredita-se que esta seja uma explicação possível para a baixa avidéz de IgG anti-*S. aureus*, uma vez que a interação entre os fragmentos Fab reduziria a ligação do anticorpo à bactéria e com isso não ocorreria a maturação de afinidade do anticorpo.

Por outro lado, a menor taxa de transferência placentária no grupo caso poderia estar relacionada a diferenças na passagem de subclasses de IgG anti-*S. aureus* em relação aos controles e poderia ocorrer uma interferência qualitativa e não numérica da colonização nasal na formação do IgG específico.

Para responder a esta pergunta, dosagens de subclasses de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* foram realizadas e a representação dos resultados de anticorpos IgG1 e IgG2 específicos foi transformada em títulos, ao contrário do que foi mostrado para IgG anti-*S. aureus*, que foi apresentado em unidades arbitrárias/mL, o que permitiu realizar comparações entre os níveis dessas diferentes subclasses de anticorpos em uma mesma amostra e entre os grupos.

No presente estudo, observou-se em soros maternos e de cordão do grupo caso concentrações menores de IgG1 anti-*S. aureus*, com a taxa de transferência placentária dessa subclasse semelhante entre o grupo caso e controle, sugerindo que o fator determinante para títulos menores de IgG1 anti-*S. aureus* em soro de cordão foi o menor título de IgG1 anti-*S. aureus* no soro das mães do grupo caso.

Uma vez que anticorpos IgG1 apresentam transcitose através das células epiteliais, a colonização nasal materna pode estar relacionada a um consumo maior de IgG1 anti-*S. aureus*, sendo interessante a dosagem futura de IgG, suas subclasses e IgA reativas ao *S. aureus* na secreção nasal de mães saudáveis e colonizadas.

Para IgG2 anti-*S. aureus*, não foram detectadas diferenças entre os grupos caso e controle nos soros maternos e de cordão, com taxa de transferência placentária semelhante entre os grupos. Títulos elevados de IgG2 foram detectados em ambos os grupos e significativamente muito maiores quando comparados intra grupos aos de IgG1, denotando a importância de elementos como os polissacarídeos capsulares e ácidos teicóicos e lipoteicóicos, ou seja, antígenos não proteicos na indução de imunidade humoral à presença do *S. aureus*, pois são indutores de imunidade na fase de invasão tecidual, corroborando para terem sido decorrentes de encontros anteriores e não secundários a colonização atual.

JUNG *et al.* (2012), a partir de preparações comerciais de IVIG, detectaram anticorpos IgG1 e IgG2 que reconhecem especificamente o ácido teicóico do *S. aureus* e, diferente do IgG1, que apresenta capacidade de se ligar ao C1q e ativar a via clássica do complemento, conduzindo a opsonização e opsonofagocitose da bactéria mediada por polimorfonucleares, o isotipo IgG2 também apresentou atividade de opsonofagocitose contra *S. aureus*, porém pela deposição de C4 e C3.

Todavia, comparativamente intra grupo, as taxas de transferência placentária permaneceram maiores para IgG1, o que vem de acordo com a literatura que demonstra taxas maiores de passagem placentária para antígenos proteicos e, conseqüentemente, das subclasses IgG1 e IgG3 comparativamente à IgG2 (PALMEIRA, 2012).

TAKAHASHI *et al.* (2013) testaram imunização por via intradérmica com ácido teicóico (WTA) e obtiveram resposta protetora em camundongos contra cepa de *S. aureus* resistente a meticilina demonstrando que, embora antígenos polissacarídeos tenham sido descritos previamente por elicitarem resposta T-independente para o WTA, este demonstrou ter uma resposta célula T-dependente adicional.

O achado de transferência placentária menor de IgG anti-*S. aureus* e a subclasse IgG1 anti-*S. aureus* pode se tratar de uma característica do tipo de IgG espécies-dependentes ou fatores de virulência-dependente, expressos pela cepa utilizada no estudo, mas que não foi objeto do presente estudo.

No presente trabalho, observou-se concentrações elevadas de IgA no colostro de 24 horas em ambos casos e controles, com grande variabilidade individual nas concentrações de IgA total e concentrações de IgA total significativamente maiores no grupo caso. Um estudo que avaliou a presença de IgA anti-glicoproteína 9 do sorotipo 5 do rotavírus em amostras de leite de mulheres brasileiras também demonstrou grandes variações individuais nos títulos de IgA total obtidos por ELISA (SANTOS *et al.*, 2013).

KAWANO e EMORI (2013) encontraram concentrações elevadas em colostro de 3 dias pós-parto e redução de 50% destas com 8 semanas pós parto. Os autores encontraram concentrações maiores de IgA em colostro de 3 dias de vida entre primíparas comparadas às múltiparas, mas apenas nas concentrações de IgA de 3

dias pós-parto, não se sustentando esta diferença em leites posteriores e não tendo sido analisada colonização materna.

Embora no presente estudo a primariedade seja significativamente maior no grupo controle, a média de idade das mães foi comparativamente menor (24 anos no grupo caso e 25 anos no grupo controle) que a das mães do estudo de KAWANO e EMORI (2013) (média de 32 anos), o que pode refletir diferenças no grau de exposição das mães a ampla variedade de patógenos ambientais.

As mães, independentes da colonização nasal, transferem IgA anti-*S. aureus*, pelos contatos prévios ou, até mesmo, de outros sítios independentes, como o trato digestório, não estando a colonização nasal com epitélio íntegro associada a um *booster* de anticorpos IgA reativos a cepa da bactéria que coloniza a mãe por ocasião do parto.

BRANDTZAEG (2011) sobre a participação do tecido linfóide nasal como indutor de imunidade refere uma baixa contribuição para indução imune sistêmica, porém apresenta a possibilidade de estimulação policlonal para um maior desenvolvimento da diversidade de células B e de memória imunológica para patógenos que acometem o trato respiratório, baseando-se nas propriedades de *homing* para a mucosa das vias aéreas.

Este princípio tem sido retomado nos últimos anos para imunidade passiva em humanos nos processos de exclusão e neutralização em trato gastrointestinal com a fabricação de leite hiperimune em modelo animal de vacas com a necessidade, além da instalação nasal de solução contendo o antígeno, de reforço indutor intradérmico no animal para este fim (PLAT-SINNIGE *et al.*, 2009).

No presente trabalho, encontrou-se títulos semelhantes de IgA reativos com *S. aureus* nos colostro das mães colonizadas em relação ao grupo controle e sem diferenças na avidéz da IgA anti-*S. aureus*, denotando que a detecção da bactéria

na parturiente por ocasião do parto, não resultou em reforço quantitativo ou qualitativo da IgA específica.

BRANDTZAEG (2011), em pacientes com processo inflamatório crônico ou recorrente, refere a possibilidade de menor indução numérica de imunidade humoral no sítio nasal, decorrente da redução de células M e menor apresentação de antígenos. Todavia, como a colonização pode ser duradoura ou recorrente sendo um processo repetitivo ao longo da vida, pode em indivíduos saudáveis estar contribuindo para maturação da afinidade da IgA, com melhora na qualidade do reconhecimento do antígeno, o que não foi observado em nosso estudo, tanto pela quantidade, como pela avidéz.

No presente estudo, não podemos afastar, contudo, o consumo de IgA no leite das mães colonizadas, haja visto que o *S. aureus* é um patógeno possível de ser encontrado no leite materno, todavia não avaliou-se concentração bacteriana ou cultura das amostras do colostro.

Comparativamente, a avidéz da IgA anti-*S. aureus* do colostro foi significativamente maior que a avidéz da IgG anti-*S. aureus* sérica, o que seria esperado neste estudo por ser a IgA o principal anticorpo induzido na imunidade de mucosas.

Embora se discuta na literatura que testes de avidéz representem a atividade funcional dos anticorpos, uma vez que demonstra a força de ligação destes com os antígenos, esta é uma prova funcional mais adequada para anticorpos IgA, cuja propriedade principal é desempenhar a exclusão imune. Em relação aos anticorpos IgG e, de acordo com sua principal função na defesa contra *S. aureus*, o teste funcional mais adequado seria o de opsonofagocitose porém, no presente projeto, priorizou-se a análise das subclasses de anticorpos, que revelou resultados mais conclusivos.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

- 1 - No presente estudo a prevalência de colonização nasal pelo *S. aureus* foi de 19,6% em parturientes saudáveis;
- 2 - Mães com colonização nasal pelo *S. aureus* apresentaram concentrações séricas maiores de IgG total e equivalentes de IgG anti-*S. aureus* comparadas a mães não colonizadas neste sítio por ocasião do parto, porém com menor taxa de transferência placentária de IgG total e específica;
- 3 - Mães com colonização nasal pelo *S. aureus* e seus recém-nascidos apresentaram títulos séricos menores de IgG1 anti-*S. aureus*, com taxa de transferência placentária semelhante a de mães não colonizadas, não havendo diferenças entre os grupos em relação a título e transferência de IgG2;
- 4 - Independente do estado de colonização, os títulos de IgG2 anti-*S. aureus* foram comparativamente maiores que os de IgG1 anti-*S. aureus* nos soros maternos e de seus RN;
- 5 - Parturientes com colonização nasal pelo *S. aureus* apresentaram concentrações maiores de IgA total no colostro e equivalentes de IgA anti-*S. aureus* comparadas a mães não colonizadas pela bactéria neste sítio por ocasião do parto;
- 6 - Independente do estado de colonização, os índices de avidéz de IgG sérica e de IgA secretora anti-*S. aureus* foram semelhantes entre os grupos, no entanto IgA do colostro apresentou índices de avidéz significativamente maiores que os de IgG.

O presente trabalho revelou que a colonização nasal materna por *S. aureus* no momento do parto em mães saudáveis não está associada com maiores concentrações de IgG sérica específica na mãe ou em seus respectivos recém-nascidos, nem IgA secretora no colostro. Títulos menores de IgG1 anti-*S. aureus* estiveram associados a presença da bactéria no sítio nasal por ocasião do parto em soros maternos e do RN. A presença de títulos elevados de IgG2 *S. aureus*-específicos no recém-nascido encontrada neste estudo, isto é, anticorpos com baixa atividade opsonizante, reitera a maior susceptibilidade neonatal para este agente patogênico. Comparativamente, a IgA secretora no colostro apresentou melhor índice de avidéz de IgG no soro, o que reforça a importância da amamentação precoce e contínua nos primeiros meses de vida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez N, Otero O, Camacho F, Borrero R, Tirado Y, Puig A, *et al.* Passive administration of purified secretory IgA from human colostrum induces protection against *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model of progressive pulmonary infection. *BMC Immunol.* 2013;14(Suppl 1):S3.

Asano M, Komiyama K. Polymeric immunoglobulin receptor. *J Oral Sci.* 2011;53(2):147-56.

Asensi GF, de Sales NF, Dutra FF, Feijó DF, Bozza MT, Ulrich RG, *et al.* Oral immunization with *Lactococcus lactis* secreting attenuated recombinant staphylococcal enterotoxin B induces a protective immune response in a murine model. *Microb Cell Fact.* 2013;12:32.

Benjamin DK, Schelonka R, White R, Holley HP, Bifano E, Cummings J, *et al.* A blinded, randomized, multicenter study of an intravenous *Staphylococcus aureus* immune globulin. *J Perinatol.* 2006;26(5):290-5.

Berberian G, Firpo V, Soto A, Manan JL, Torroija C, Castro G, *et al.* Osteoarthritis in the neonate: risk factors and outcome. *Braz J Infect Dis.* 2010;14(4):413-8.

Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr.* 2010;156:S8-S15.

Brandtzaeg P. Potencial of nasopharynx-associated lymphoid tissue for vaccine responses in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:1595-604.

Brasil. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores Sociais Municipais - Uma análise dos resultados do universo do Censo Demográfico 2010. Estudos e Pesquisas Informação Demográfica e Socioeconômica número 28. [acesso em 16 jan 2013]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/indicadores_sociais_municipais/indicadores_sociais_municipais.pdf.

Bröker BM, Holtfreter S, Bekeredjian-Ding I. Immune control of *Staphylococcus aureus* - regulation and counter-regulation of the adaptive immune response. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(2):204-14.

Burian M, Grumann D, Holtfreter S, Wolz C, Goerke C, Bröker BM. Expression of staphylococcal superantigens during nasal colonization is not sufficient to induce a systemic neutralizing antibody response in humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31:251-6.

Carbonare SB, Palmeira P, Silva ML, Carneiro-Sampaio MMS. Effect of microwave radiation, pasteurization and lyophilization on the ability of human milk to inhibit *Escherichia coli* adherence to HEp-2 cells. *J Diarrhoeal Dis Res*, 1996;14:90- 4.

Chatzakis E, Scoulica E, Papageorgiou N, Maraki S, Samonis G, Galanakis E. Infant colonization by *Staphylococcus aureus*: role of maternal carriage. *Eur J Clin Microbiol*. 2011;9(30):1111-7.

Coombs MRP, Kronforst K, Levy O. Neonatal host defense against staphylococcal infections. *Clin Dev Immunol*. Article ID 826303, 9 pages, 2013. doi:10.1155/2013/826303.

Corthésy B. Role of secretory IgA in infection and maintenance of homeostasis. *Autoimmun Rev.* 2013;12(6):661-5.

Das D, Bishayi B. Staphylococcal catalase protects intracellularly survived bacteria by destroying H₂O₂ produced by the murine peritoneal macrophages. *Microb Pathog.* 2009;47(2):57-67.

DeDent A, Kim HK, Missiakas D, Schneewind O. Exploring *Staphylococcus aureus* pathways to disease for vaccine development. *Semin Immunopathol.* 2012;34:317-33.

DeJonge M, Burchfield D, Bloom B, Duenas M, Walker W, Polak M, *et al.* Clinical trial of safety and efficacy of INH-A21 for the prevention of nosocomial staphylococcal bloodstream infection in premature infants. *J Pediatr.* 2007;151(3):260-5.

den Heijer CD, van Bijnen EM, Paget WJ, Pringle M, Goossens H, Bruggeman CA, *et al.* Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including meticillin-resistant *S. aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(5):409-15.

Downie L, Armiento R, Subhi R, Kelly J, Clifford V, Duke T. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics--systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child.* 2013;98:146-54.

Ellinger I, Fuchs R. hFcRn-mediated transplacental immunoglobulin G transport: protection of and threat to the human fetus and newborn. *Wien Med Wochenschr.* 2012;162(9-10):207-13.

Englund JA. The influence of maternal immunization on infant immune responses. *J Comp Path.* 2007;137:16-9.

Fernandez S, Cisney ED, Hall SI, Ulrich RG. Nasal immunity to staphylococcal toxic shock is controlled by the nasopharynx-associated lymphoid tissue. *Clin Vaccine Immunol.* 2011;18:667-75.

Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, *et al.* The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69(1):1-10.

Fernandes JR, Snider DP. Polymeric IgA-secreting and mucosal homing pre-plasma cells in normal human peripheral blood. *Int Immunol.* 2010;22(6):527-40.

Foster TJ. Colonization and infection of the human host by staphylococci: adhesion, survival and immune evasion. *Vet Dermatol.* 2009;20:456-70.

Fowler VG Jr, Proctor RA. Where does a *Staphylococcus aureus* vaccine stand? *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(5):66-75.

Ganatra HA, Zaidi AKM. Neonatal infections in the developing world. *Semin Perinatol.* 2010;34:416-25.

Hanson LA, Silfverdal SA. The mother's immune system is a balanced threat to the foetus, turning to protection of the neonate. *Acta Pædiatr.* 2009;98(2):221-8.

Harrison LM, Morris JA, Lauder RM, Telford DR. The effect of *Staphylococcus aureus* carriage in late pregnancy on antibody levels to staphylococcal toxins in cord blood and breast milk. *Immunol Med Microbiol.* 2008;54:137-43.

Holtfreter S, Kolata J, Bröker BM. Towards the immune proteome of *Staphylococcus aureus* - the anti-*S. aureus* antibody response. *Int J Med Microbiol.* 2010;300(2-3):176-92.

Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*. 2011;3:442-74.

Jimenez-Truque N, Tedeschi S, Saye EJ, McKenna BD, Langdon W, Wright JP, Alsentzer A, Arnold S, Saville BR, Wang W, Thomsen I, Creech CB. Relationship between maternal and neonatal *Staphylococcus aureus* colonization. *Pediatrics*. 2012;129(5):1252-9.

Johannessen M, Sollid JE, Hanssen A. Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. *Front Cell Inf Microbiol*. 2012;(2)56:1-14.

Jones CL, MacDonald RA, Hosking CS, Robertson DM. Estimating the relative avidity of mucosal IgA for antigen. *J Immunol Methods*. 1987;105: 111–7.

Jongerijs I, von Kockritz-Blickwede M, Horsburgh MJ, Ruyken M, Nizet V, Rooijackers SHM. *Staphylococcus aureus* virulence is enhanced by secreted factors that block innate immune defenses. *J Innate Immun*. 2012;4:301-11.

Jung DJ, An JH, Kurokawa K, Jung YC, Kim MJ, Aoyagi Y, *et al*. Specific serum Ig recognizing staphylococcal wall teichoic acid induces complement-mediated opsonophagocytosis against *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2012;15;189(10):4951-9.

Kawano A, Emori Y. Changes in maternal secretory immunoglobulin A levels in human milk during 12 weeks after parturition. *Am J Hum Biol*. 2013;25(3):399-403.

Jursa-Kulesza J, Kordek A, Kopron K, Wojciuk B, Giedrys-Kalemba S. Molecular studies of an impetigo bullosa epidemic in full-term infants. *Neonatology*. 2009;96:61-8.

Kumpel BM, Manoussaka MS. Placental immunology and maternal alloimmune responses. *Vox Sang*. 2012;102(1):2-12.

Kurokawa K, Jung DJ, An JH, Fuchs K, Jeon YJ, Kim NH, *et al*. Mannose-binding lectin via human serum antibody and complement-mediated opsonophagocytosis teichoic acid govern glycoepitopes of staphylococcal wall. *J Biol Chem*. 2013;288(43):30956-68.

Leshem E, Maayan-Metzger A, Rahav G, Dolitzki M, Kuint J, Roytman Y, *et al*. Transmission of *Staphylococcus aureus* from mothers to newborns. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(4):360-3.

Lijek RS, Luque SL, Liu Q, Parker D, Bae T, Weiser JN. Protection from the acquisition of *Staphylococcus aureus* nasal carriage by cross-reactive antibody to a pneumococcal dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(34):13823-8.

Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *New Engl J Med*. 1998;339(8):520-32.

Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen F-E, Brandtzaeg P. The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunol*. 2008;1:11-22.

Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol*. 2013;21(4):167-73.

Mir F, Tikmani SS, Shakoor S, Warraich HJ, Sultana S, Ali SA, *et al*. Incidence and etiology of omphalitis in Pakistan: a community-based cohort study. *J Infect Dev Ctries*. 2011;5(12):828-33.

Mishra RPN, Mariotti P, Fiaschi L, Nosari S, Maccari S, Liberatori S, *et al.* *Staphylococcus aureus* FhuD2 is involved in the early phase of staphylococcal dissemination and generates protective immunity in mice. *J Infect Dis.* 2012;206:1041-49.

Montgomery CO, Siegel E, Blasier RD, Suva LJ. Concurrent septic arthritis and osteomyelitis in children. *J Pediatr Orthop.* 2013;33:464-7.

Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:985646. doi:10.1155/2012/985646.

Patel RI, Kaufman HK. Nasopharyngeal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Incidence and outcomes in pregnant women. *J Am Osteopath Assoc.* 2011;111(6):389-95.

Plat-Sinnige MJT, Verkaik NJ, vanWamel WJB, Groot N, Acton DS, van Belkum A. Induction of *Staphylococcus aureus*-specific IgA and agglutination potency in milk of cows by mucosal immunization. *Vaccine.* 2009;27:4001-9.

Proctor RA. Challenges for a universal *Staphylococcus aureus* vaccine. *Clin Infect Dis.* 2012;54(8):1179-86.

Quinello C, Quintilio W, Carneiro-Sampaio M, Palmeira P. Passive Acquisition of Protective Antibodies Reactive with *Bordetella pertussis* in Newborns via Placental Transfer and Breast-feeding. *Scand J Immunol.* 2010;72:66-73.

Rigby KM, DeLeo FR. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin Immunopathol.* 2012;34:237-59.

Rochereau N, Drocourt D, Perouzel E, Pavot V, Redelinguys P, Brown GD, *et al.* Dectin-1 is essential for reverse transcytosis of glycosylated siga-antigen complexes by intestinal m cells. *PLoS Biol.* 2013;11(9):e1001658. doi: 10.1371/journal.pbio.1001658.

Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol.* 2007;7:715-25.

Santos SM, Ferreira TL, Quintal VS, Carbonare SB, Tino-De-Franco M. Milk from Brazilian women presentes secretory IgA antibodies and neutralizes rotavirus G9P[5]. *J Pediatr (Rio J).* 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2013.02.017>

Shikina T, Hiroi T, Iwatani K, Jang MH, Fukuyama S, Tamura M, *et al.* IgA class switch occurs in the organized nasopharynx- and gut-associated lymphoid tissue, but not in the diffuse lamina propria of airways and gut. *J Immunol.* 2004;172:6259-64.

Shuter J, Hatcher VB, Lowy, FD. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. *Infect Immun.* 1996; 64(1):310-8.

Simor AE. Staphylococcal decolonisation: an effective strategy for prevention of infection? *Lancet Infect Dis.* 2011;11:952-62.

Skurnik D, Merighi M, Grout M, Gadjeva M, Maira-Litran T, Ericsson M, *et al.* Animal and human antibodies to distinct *Staphylococcus aureus* antigens mutually neutralize opsonic killing and protection in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(9):3220-33.

Spellberg B, Daum R. Development of a vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Semin Immunopathol.* 2012;34(2):335-48.

Takahashi K, Kurokawa K, Moyo P, Jung DJ, An JH, Chigweshe L, *et al.* Intradermal immunization with wall teichoic acid (WTA) elicits and augments an anti-WTA IgG response that protects mice from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection independent of mannose-binding lectin status. *PLoS One*. 2013;8(8):e69739. doi: 10.1371/journal.pone.0069739.

van Belkum A, Verkaik NJ, de Vogel CP, Boelens HA, Verveer J, Nouwen JL, *et al.* Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis*. 2009;199:1820-6.

van den Berg S, van Wamel WJB, Snijders SV, Ouwerling B, de Vogel CP, Boelens HA, *et al.* Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) are natural hosts of specific *Staphylococcus aureus* lineages. *PLoS ONE*. 2011;6(10):e26170. doi:10.1371/journal.pone.0026170.

Verkaik NJ, de Vogel CP, Boelens HA, Grumann D, Hoogenboezem T, Vink C, *et al.* Anti-Staphylococcal humoral immune response in persistent nasal carriers and noncarriers of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*. 2009;199:625-32.

Verkaik NJ, Boelens HA, de Vogel CP, Tavakol M, Bode LGM, Verbrugh HA, *et al.* Heterogeneity of the humoral immune response following *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010a;29:509-18.

Verkaik NJ, Lebon A, de Vogel CP, Hooijkaas H, Verbrugh HA, Jaddoe VWV, *et al.* Induction of antibodies by *Staphylococcus aureus* nasal colonization in young children. *Clin Microbiol Infect*. 2010b;16(8):1312-7.

Wacker M, Wang L, Kowarik M, Dowd M, Lipowsky G, Faridmoayer A, *et al.* Prevention of *Staphylococcus aureus* infections by glycoprotein vaccines synthesized in *Escherichia coli*. *J Infect Dis*. 2014;209:1551-61.

Weber MA, Hartley JC, Klein NJ, Risdon RA, Malone M, Sebire NJ. Staphylococcal toxins in sudden unexpected death in infancy: experience from a single specialist centre. *Forensic Sci Med Pathol*. 2011;7(2):141-7.

Weisman LE, Thackray HM, Steinhorn RH, Walsh WF, Lassiter HA, Dhanireddy R, *et al*. A randomized study of a monoclonal antibody (pagibaximab) to prevent staphylococcal sepsis. *Pediatrics*. 2011;128(2):271-9.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Ficha de coleta de dados

1 Número _ _ _

2 Data de nascimento _ _ / _ _ / _ _ _ _

3 Hora do nascimento _ _ / _ _ / _ _ _ _

4 Hospital _ (1=Santa Helena; 2=HGU)

IDENTIFICAÇÃO

5 Nome da mãe _____

6 Telefone _____

7 Endereço _____

DADOS DEMOGRÁFICOS E SOCIAIS MATERNOS

8 Idade materna _ _ anos

9 Renda familiar R\$ _ _ _ _ ,00

10 Quantas pessoas moram na casa _

11 Renda familiar *per capita*: _ _ _ , _ _

12 Fez pré-natal? _ (1=sim; 2=não)

13 IG por Capurro somático _ _ semanas completas

14 Gesta _ _

Condições maternas no Parto

15 Peso _ _ _ kg

16 Estatura _ _ , _ _ m

17 IMC _ _ _

Ficha de admissão do recém-nascido

18 Apgar do recém-nascido 5º minuto _ _

19 Peso de nascimento _ _ _ _ gramas

20 Peso da placenta _ _ _ _ gramas

21 N° de cotilédones da placenta _ _

Coleta de amostras do leite

22 Data de coleta do colostro _ _ / _ _ / _ _ _ _

23 Hora da coleta do colostro _ _ : _ _ h

Apêndice 2 – Tabela de classificação da gestante dos grupos caso (n=49) e controle (n=98) segundo IMC para idade gestacional

IMC gestante	Casos		Controles	
	n	%	n	%
Adequado	25	51,0	36	36,7
Baixo Peso	12	24,5	30	30,6
Obesa	3	6,1	12	12,2
Sobrepeso	9	18,4	20	20,4
Total	49	100	98	100

IMC – Índice de massa corpórea.

Apêndice 3 -

Figura da distribuição dos grupos caso (n=45) e controle (n=98) segundo o tempo de coleta do colostro em horas após o parto.

Apêndice 4 -

Figura da distribuição dos grupos caso (n=49) e controle (n=98), segundo renda familiar *per capita* (salário mínimo/pessoa/mês).

Apêndice 5 - Características individuais das mães e recém-nascidos do Grupo Caso

Nº Am	Data nascimento	Hora nascimento	Hospital	Idade (anos)	Renda familiar (R\$)	Nº pessoas	rpc (R\$)	valor SM	rpc/mês (SM)	Pré-natal	IG Capurro	Gesta	Peso mãe (Kg)	Altura (m)	IMC	IMC/IG	Parto	Apgar 5º minuto	Peso RN (g)	Peso placenta (g)	Nº cotilédones	Data coleta colostro	Tempo coleta colostro (horas)
5	11/08/2011	11:25	1	25	1000,00	4	250,00	545,00	0,46	1	39	2	70,758	1,65	26	adequado	2	10	3090	560	9	12/08/2011	22,58
10	09/02/2012	12:06	1	26	2000,00	3	666,67	622,00	1,07	1	40	1	62,852	1,52	27	adequado	1	9	2918	590	12	10/02/2012	21,9
21	15/02/2012	9:20	1	22	620,00	4	155,00	622,00	0,25	1	39	1	67,332	1,58	27	adequado	1	9	2940	455	9	16/02/2012	23,83
23	23/02/2012	9:44	1	28	3000,00	4	750,00	622,00	1,21	1	41	2	86,164	1,73	29	adequado	1	9	3440	558	9	24/02/2012	23,6
25	23/02/2012	11:26	1	20	1200,00	4	300,00	622,00	0,48	1	39	2	56,527	1,58	23	baixo peso peso	1	9	3144	608	13	24/02/2012	22,9
31	27/02/2012	12:30	1	23	4000,00	8	500,00	622,00	0,80	1	38	1	72,165	1,54	30	sobrepeso	1	9	3350	558	10	28/02/2012	19,5
35	01/03/2012	10:17	1	35	1240,00	6	206,67	622,00	0,33	1	41	5	71,154	1,61	28	adequado	1	9	3780	828	12	02/03/2012	22,38
37	03/03/2012	8:33	3	21	1200,00	6	200,00	622,00	0,32	1	39	4	68,527	1,68	24	baixo peso peso	1	9	3285	615	12	04/03/2012	23,95
43	08/03/2012	12:50	1	24	900,00	5	180,00	622,00	0,29	1	40	3	77,565	1,63	29	sobrepeso	1	10	3184	442	8	09/03/2012	24
44	08/03/2012	13:00	1	26	890,00	4	222,50	622,00	0,36	1	40	5	76,150	1,66	28	adequado	1	9	3746	778	10	09/03/2012	23,67
47	09/03/2012	12:30	1	23	1500,00	12	125,00	622,00	0,20	1	40	4	86,194	1,6	34	obesa	1	9	3760	664	10	10/03/2012	23
52	13/03/2012	11:36	1	20	620,00	5	124,00	622,00	0,20	1	38	2	63,134	1,58	25	adequado	1	9	2680	764	12	14/03/2012	22,23
57	16/03/2012	12:30	1	30	1700,00	3	566,67	622,00	0,91	1	40	1	59,176	1,65	22	baixo peso	1	10	2894	652	8	17/03/2012	22,42
62	20/03/2012	12:25	1	24	450,00	4	112,50	622,00	0,18	1	38	2	68,211	1,55	28	adequado	1	9	3480	768	12	21/03/2012	20,08
72	28/03/2012	9:40	1	28	1000,00	7	142,86	622,00	0,23	1	40	2	64,257	1,53	27	adequado	1	10	2700	460	8	29/03/2012	23,33
78	30/03/2012	11:10	1	20	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	38	1	84,110	1,63	32	sobrepeso	1	9	3152	590	10	31/03/2012	22,83
86	03/04/2012	6:40	3	23	2000,00	6	333,33	622,00	0,54	1	37	2	65,980	1,62	25	adequado	1	9	3390	725	11	04/04/2012	24,17
87	03/04/2012	11:30	1	24	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	39	3	58,220	1,56	24	baixo peso	1	10	3420	574	10	04/04/2012	19,83
91	09/04/2012	10:20	1	21	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	37	3	74,170	1,58	30	sobrepeso	1	10	3350	602	7	10/04/2012	20,67
93	10/04/2012	9:44	1	33	1644,00	5	328,80	622,00	0,53	1	39	5	77,230	1,6	30	sobrepeso	1	9	3406	572	10	11/04/2012	21,1
95	10/04/2012	11:55	1	21	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	37	3	63,288	1,6	25	adequado	1	9	3086	428	7	11/04/2012	19,22
123	08/05/2012	9:35	1	21	1200,00	3	400,00	622,00	0,64	1	38	2	61,116	1,66	22	baixo peso	1	10	2934	570	9	09/05/2012	21,75
127	09/05/2012	12:30	1	20	2000,00	8	250,00	622,00	0,40	1	39	1	63,113	1,67	23	baixo peso	1	10	3704	782	14	10/05/2012	18,37

129	10/05/2012	13:00	1	20	1400,00	4	350,00	622,00	0,56	1	39	4	63,324	1,52	27	adequado	2	10	2500	620	9	11/05/2012	18,83
133	14/05/2012	12:49	1	27	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	38	3	63,622	1,53	27	adequado	1	9	2876	534	8	15/05/2012	17,93
134	14/05/2012	12:20	1	25	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	38	2	68,530	1,6	27	adequado	1	9	3140	576	9	15/05/2012	21,67
145	23/05/2012	9:16	1	31	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	40	3	83,344	1,55	35	obesa	1	9	3914	680	7	24/05/2012	23,4
147	23/05/2012	12:28	1	24	1000,00	4	250,00	622,00	0,40	1	39	2	59,088	1,5	26	adequado	1	9	3138	470	9	24/05/2012	18,78
148	24/05/2012	11:00	1	23	3000,00	3	1000,00	622,00	1,61	1	39	3	61,155	1,69	21	baixo peso	1	10	3580	692	8	25/05/2012	20,5
152	28/05/2012	10:35	1	22	657,00	5	131,40	622,00	0,21	1	38	3	69,321	1,6	27	adequado	1	10	2976	620	10	29/05/2012	20,75
153	28/05/2012	12:00	1	23	1000,00	4	250,00	622,00	0,40	1	37	2	60,321	1,71	21	baixo peso	1	9	3215	572	7	29/05/2012	19,75
156	30/05/2012	7:49	1	22	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	40	4	73,276	1,72	25	baixo peso	1	9	3320	574	9	31/05/2012	24,27
157	30/05/2012	10:37	1	21	900,00	4	225,00	622,00	0,36	1	38	2	69,108	1,67	25	adequado	1	10	3878	810	14	31/05/2012	20,88
160	31/05/2012	11:45	1	26	1300,00	5	260,00	622,00	0,42	1	39	2	64,103	1,6	25	adequado	1	9	3768	734	10	01/06/2012	19,42
171	12/06/2012	12:40	1	25	700,00	3	233,33	622,00	0,38	1	39	2	72,121	1,58	29	adequado	1	10	3370	810	14	12/06/2012	19,5
185	25/06/2012	12:10	1	23	1250,00	6	208,33	622,00	0,33	1	39	3	82,198	1,69	29	adequado	1	9	3602	528	10	26/06/2012	18,92
190	27/06/2012	11:40	1	20	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	39	1	47,176	1,55	20	baixo peso	1	9	2740	600	10	28/06/2012	20,33
195	02/07/2012	9:25	1	24	800,00	4	200,00	622,00	0,32	1	41	2	68,998	1,64	26	adequado	1	9	3256	668	12	03/07/2012	22,58
207	06/07/2012	10:12	1	25	1400,00	4	350,00	622,00	0,56	1	41	2	70,534	1,65	26	adequado	1	10	3780	920	13	07/07/2012	23,63
224	07/08/2012	12:16	1	32	932,00	5	186,40	622,00	0,30	1	41	3	67,635	1,61	26	adequado	1	9	3470	728	12	08/08/2012	19,73
226	13/08/2012	12:35	1	20	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	40	1	56,108	1,6	22	baixo peso	1	10	2898	520	7	14/08/2012	19,42
227	14/08/2012	8:38	1	28	1244,00	4	311,00	622,00	0,50	1	39	3	82,176	1,59	33	sobrepeso	1	10	3120	642	10	15/08/2012	22,87
233	17/08/2012	8:50	1	35	1500,00	5	300,00	622,00	0,48	1	39	7	120,194	1,74	40	obesa	1	10	4458	846	14	18/08/2012	21,67
234	20/08/2012	8:25	1	26	1200,00	3	400,00	622,00	0,64	1	37	4	65,142	1,55	27	adequado	1	10	2870	466	8	21/08/2012	22,58
241	23/08/2012	12:10	1	27	950,00	6	158,33	622,00	0,25	1	39	4	82,623	1,64	31	sobrepeso	1	10	2904	640	8	24/08/2012	18,5
244	27/08/2012	10:30	1	21	2000,00	9	222,22	622,00	0,36	1	39	2	83,124	1,63	31	sobrepeso	1	9	3384	714	9	28/08/2012	20,33
245	28/08/2012	8:33	1	22	1555,00	4	388,75	622,00	0,63	1	39	3	85,163	1,64	32	sobrepeso	1	9	4060	764	12	29/08/2012	22,45
246	28/08/2012	9:46	1	20	1555,00	3	518,33	622,00	0,83	1	41	1	68,158	1,62	26	adequado	1	9	3260	714	14	29/08/2012	22,23
249	30/08/2012	9:56	1	23	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	40	3	60,090	1,66	22	baixo peso	1	10	3620	534	10	31/08/2012	20,62

Am – Amostra; RFPC – renda familiar *per capita*; N° – número; SM - salário mínimo; IG - Idade Gestacional; m - metro; IMC - Índice de Massa Corporal; RN – Recém-nascido.

Apêndice 6 - Características individuais das mães e recém-nascidos do Grupo Controle

N° Am	Data nascimento	Hora nascimento	Hospital	Idade (anos)	Renda familiar (R\$)	N° pessoas	rfpc (R\$)	valor SM	rfpc/mês (SM)	Pré-natal	IG Capurro	Gesta	Peso mãe (Kg)	Altura (m)	IMC	IMC/IG	Parto	Apgar 5° minuto	Peso RN (g)	Peso placenta (g)	N° cotilédones	Data coleta colostro	Tempo coleta colostro (horas)
4	11/08/2011	10:55	1	22	2500,00	3	833,33	545,00	1,53	1	38	2	83,555	1,52	36	obesa	2	10	3135	520	12	12/08/2011	22,42
7	11/09/2011	13:04	1	31	622,00	5	124,40	545,00	0,23	1	39	2	101,650	1,6	40	obesa	1	10	3140	646	11	12/08/2011	20,93
11	09/02/2012	9:17	1	33	1000,00	5	200,00	622,00	0,32	1	40	4	73,523	1,6	29	adequado	1	9	3460	538	10	10/02/2012	22,38
12	09/02/2012	11:14	1	23	1200,00	6	200,00	622,00	0,32	1	39	5	65,857	1,62	25	adequado	1	9	2836	672	13	10/02/2012	23,35
20	15/02/2012	9:10	1	26	620,00	5	124,00	622,00	0,20	1	40	4	72,211	1,66	26	adequado	1	10	3834	935	13	16/02/2012	23,83
22	16/02/2012	9:23	1	21	1500,00	3	500,00	622,00	0,80	1	40	2	56,127	1,69	20	baixo peso	1	9	3334	560	10	17/02/2012	24,62
24	23/02/2012	10:12	1	27	900,00	4	225,00	622,00	0,36	1	38	4	78,134	1,67	28	adequado	1	9	3620	780	13	24/02/2012	23,8
26	23/02/2012	12:35	1	26	2200,00	7	314,29	622,00	0,51	1	39	2	62,156	1,58	25	adequado	1	9	3046	610	11	24/02/2012	22,08
27	24/02/2012	9:59	1	24	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	39	4	70,212	1,57	29	adequado	1	10	3704	700	14	25/02/2012	20,85
28	27/02/2012	11:14	1	30	700,00	5	140,00	622,00	0,23	1	39	5	74,110	1,68	26	adequado	1	10	3380	639	11	28/02/2012	19,77
30	27/02/2012	12:16	1	35	900,00	7	128,57	622,00	0,21	1	38	9	54,123	1,63	20	baixo peso	1	9	2784	548	11	28/02/2012	18,57
34	29/02/2012	9:15	1	23	680,00	4	170,00	622,00	0,27	1	38	4	84,133	1,65	31	sobrepeso	1	9	3690	614	10	01/03/2012	23,75
36	01/03/2012	10:55	1	21	960,00	4	240,00	622,00	0,39	1	41	2	78,165	1,65	29	adequado	1	9	3580	530	8	02/03/2012	22,08
38	03/03/2012	12:16	3	23	1300,00	7	185,71	622,00	0,30	1	39	1	55,856	1,51	25	baixo peso	1	9	3435	545	12	04/03/2012	23,73
39	05/03/2012	9:00	1	20	6000,00	12	500,00	622,00	0,80	1	40	1	78,153	1,7	27	adequado	1	10	2960	576	9	06/03/2012	23,33
42	08/03/2012	9:07	1	21	1340,00	4	335,00	622,00	0,54	1	41	3	70,167	1,6	27	adequado	1	9	3380	970	14	09/03/2012	22,88
45	09/03/2012	11:00	1	26	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	39	1	67,167	1,59	27	adequado	1	10	3304	590	11	10/03/2012	23
46	09/03/2012	11:07	1	21	650,00	4	162,50	622,00	0,26	1	38	1	60,184	1,62	23	baixo peso	1	10	2890	488	8	10/03/2012	21,88
48	12/03/2012	9:20	1	22	1500,00	10	150,00	622,00	0,24	1	38	3	63,164	1,61	24	baixo peso	1	9	2888	542	9	13/03/2012	22,33
49	12/03/2012	10:10	1	25	1200,00	4	300,00	622,00	0,48	1	40	2	85,152	1,6	33	obesa	1	10	3462	650	10	13/03/2012	23,17
50	12/03/2012	10:20	1	21	1200,00	7	171,43	622,00	0,28	1	40	1	108,134	1,65	40	obesa	1	10	3550	624	11	13/03/2012	22,42

51	13/03/2012	10:32	1	22	800,00	3	266,67	622,00	0,43	1	39	1	58,164	1,56	24	baixo peso	1	9	3020	624	10	14/03/2012	21,55
53	14/03/2012	12:46	1	31	1400,00	4	350,00	622,00	0,56	1	40	2	92,100	1,68	33	sobrepeso	1	10	3660	666	8	15/03/2012	22,23
56	16/03/2012	10:45	1	25	600,00	3	200,00	622,00	0,32	1	39	1	78,165	1,53	33	obesa	1	9	2678	560	7	17/03/2012	21,42
58	19/03/2012	9:50	1	32	800,00	5	160,00	622,00	0,26	1	39	3	64,122	1,65	24	baixo peso	2	10	3620	750	11	20/03/2012	22,33
60	20/03/2012	8:52	1	20	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	41	1	67,102	1,63	25	adequado	2	9	2896	652	10	21/03/2012	22,55
63	21/03/2012	9:28	1	24	622,00	7	88,86	622,00	0,14	1	39	3	69,090	1,54	29	sobrepeso	1	9	3320	768	11	22/03/2012	21,45
71	28/03/2012	11:03	1	32	620,00	4	155,00	622,00	0,25	1	39	3	69,101	1,67	25	adequado	1	9	3668	748	13	29/03/2012	22,78
73	28/03/2012	10:15	1	28	620,00	4	155,00	622,00	0,25	1	39	2	51,100	1,51	22	baixo peso	1	9	2744	462	10	29/03/2012	23,25
77	30/03/2012	10:12	1	24	900,00	3	300,00	622,00	0,48	1	39	2	61,080	1,62	23	baixo peso	1	9	3434	646	11	31/03/2012	22,3
79	30/03/2012	11:45	1	31	950,00	5	190,00	622,00	0,31	1	39	4	68,820	1,63	26	adequado	1	10	2734	462	7	31/03/2012	21,25
80	30/03/2012	12:55	1	21	4000,00	6	666,67	622,00	1,07	1	39	1	58,143	1,67	21	baixo peso	1	10	3262	528	10	31/03/2012	18,08
82	02/04/2012	9:11	1	27	1500,00	7	214,29	622,00	0,34	1	40	5	58,800	1,55	25	baixo peso	1	9	2784	486	8	03/04/2012	22,82
85	02/04/2012	12:41	1	20	900,00	3	300,00	622,00	0,48	1	38	1	78,200	1,69	27	adequado	1	9	3020	620	9	03/04/2012	18,65
88	04/04/2012	10:18	1	34	2000,00	3	666,67	622,00	1,07	1	40	1	94,094	1,65	35	obesa	1	10	3480	506	9	05/04/2012	21,53
89	04/04/2012	11:58	1	27	2500,00	5	500,00	622,00	0,80	1	41	3	68,180	1,65	25	baixo peso	1	10	3890	760	14	05/04/2012	19,2
90	04/04/2012	11:57	1	21	1100,00	6	183,33	622,00	0,29	1	38	1	74,130	1,58	30	sobrepeso	1	10	2760	666	10	05/04/2012	24
92	10/04/2012	9:00	1	25	1200,00	3	400,00	622,00	0,64	1	38	1	83,195	1,8	26	adequado	1	10	2914	654	9	11/04/2012	24,17
94	10/04/2012	11:36	1	22	1000,00	3	333,33	622,00	0,54	1	38	1	71,155	1,7	25	adequado	1	9	3600	868	14	11/04/2012	19,68
96	10/04/2012	12:31	1	20	1000,00	3	333,33	622,00	0,54	1	39	1	68,532	1,57	28	adequado	1	10	3066	482	8	11/04/2012	17,48
97	13/04/2012	10:10	1	21	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	39	4	82,127	1,64	31	sobrepeso	1	10	3886	820	12	14/04/2012	21,17
98	13/04/2012	11:30	1	24	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	38	3	70,340	1,6	28	adequado	1	10	3298	780	11	14/04/2012	20,17
99	16/04/2012	11:35	1	26	2960,00	4	740,00	622,00	1,19	1	37	2	81,188	1,61	31	sobrepeso	1	9	2890	520	7	17/04/2012	19,97
122	07/05/2012	11:39	1	22	1600,00	3	533,33	622,00	0,86	1	41	1	64,129	1,64	24	baixo peso	1	9	3300	740	9	08/05/2012	21,18
124	08/05/2012	13:00	1	29	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	41	2	67,821	1,52	29	sobrepeso	1	10	3642	988	9	09/05/2012	18,33
126	09/05/2012	10:30	1	27	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	41	6	67,117	1,65	25	baixo peso	1	9	3380	770	10	10/05/2012	20,42
130	11/05/2012	11:27	1	23	700,00	3	233,33	622,00	0,38	1	40	1	81,118	1,67	29	adequado	1	9	3402	760	14	123/05/12	20,38
131	14/05/2012	8:46	1	27	700,00	4	175,00	622,00	0,28	1	39	2	68,122	1,64	25	adequado	1	9	2930	576	6	15/06/2012	23,23
132	14/05/2012	9:55	1	33	800,00	3	266,67	622,00	0,43	1	38	4	103,231	1,68	37	obesa	1	9	4140	858	14	15/06/2012	21,33

136	15/05/2012	8:05	1	22	1800,00	5	360,00	622,00	0,58	1	38	1	63,620	1,57	26	adequado	1	9	3510	762	10	16/05/2012	23,92
137	15/05/2012	8:57	1	21	800,00	5	160,00	622,00	0,26	1	38	3	50,426	1,55	21	baixo peso	1	9	3216	876	12	16/05/2012	22,38
138	17/05/2012	9:00	1	26	2000,00	3	666,67	622,00	1,07	1	39	2	67,321	1,59	27	adequado	1	9	3370	620	11	18/05/2012	23,17
141	21/05/2012	10:00	1	24	2000,00	3	666,67	622,00	1,07	1	39	1	65,080	1,68	23	baixo peso	1	9	2960	514	7	22/05/2012	21,83
143	21/05/2012	12:25	1	23	700,00	5	140,00	622,00	0,23	1	40	2	75,108	1,57	31	sobrepeso	1	10	2825	534	9	22/05/2012	19,92
146	23/05/2012	11:42	1	21	600,00	4	150,00	622,00	0,24	1	41	3	79,215	1,59	31	sobrepeso	1	9	3020	483	10	24/05/2012	20,47
150	25/05/2012	7:59	1	21	480,00	1	480,00	622,00	0,77	um	37	1	67,933	1,6	27	adequado	1	10	3156	620	8	26/05/2012	24,1
151	28/05/2012	8:32	1	34	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	38	3	94,116	1,65	35	obesa	1	9	2516	634	11	29/05/2012	22,27
154	29/05/2012	12:13	1	20	1600,00	3	533,33	622,00	0,86	1	41	1	59,334	1,63	22	baixo peso	1	9	3068	674	9	30/05/2012	19,78
155	29/05/2012	12:50	1	34	1200,00	5	240,00	622,00	0,39	1	40	3	70,527	1,52	31	sobrepeso	1	9	2988	412	7	30/05/2012	17,92
158	30/05/2012	11:58	1	24	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	40	5	70,579	1,52	31	sobrepeso	1	10	3078	570	8	31/05/2012	19,53
159	30/05/2012	12:10	1	20	800,00	3	266,67	622,00	0,43	1	41	1	75,111	1,6	29	sobrepeso	1	10	3980	820	8	31/05/2012	19,08
161	01/06/2012	10:20	1	20	900,00	3	300,00	622,00	0,48	1	38	1	88,123	1,6	34	obesa	1	8	3530	574	8	02/06/2012	21,33
162	04/06/2012	10:10	1	22	1240,00	3	413,33	622,00	0,66	1	39	1	74,214	1,79	23	baixo peso	1	9	3540	734	10	03/06/2012	20,83
163	05/06/2012	10:08	1	30	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	38	2	85,193	1,67	31	sobrepeso	1	9	3990	764	11	06/06/2012	21,07
164	05/06/2012	12:15	1	35	2000,00	4	500,00	622,00	0,80	1	40	2	79,934	1,52	35	obesa	1	9	3324	544	10	06/06/2012	20,08
165	08/06/2012	10:41	1	21	1400,00	3	466,67	622,00	0,75	1	39	2	80,825	1,7	28	adequado	1	10	3234	624	10	09/06/2012	20,73
166	08/06/2012	10:42	1	30	622,00	6	103,67	622,00	0,17	1	39	6	72,143	1,66	26	adequado	1	10	4038	868	14	09/06/2012	20,55
167	08/06/2012	11:08	1	20	2000,00	3	666,67	622,00	1,07	1	39	1	70,176	1,6	27	adequado	1	8	3260	496	8	09/06/2012	20,62
168	08/06/2012	12:12	1	26	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	37	3	70,186	1,64	26	adequado	1	10	2670	468	7	09/06/2012	19,13
170	11/06/2012	11:46	1	21	1200,00	5	240,00	622,00	0,39	1	39	1	73,154	1,57	30	sobrepeso	1	9	3298	580	11	12/06/2012	20,45
172	12/06/2012	10:27	1	25	1200,00	4	300,00	622,00	0,48	1	37	2	58,165	1,68	21	baixo peso	1	9	3422	624	12	13/06/2012	21,72
184	25/06/2012	11:51	1	21	900,00	4	225,00	622,00	0,36	1	39	2	58,132	1,6	23	baixo peso	1	9	3184	528	8	26/06/2012	19,4
186	26/06/2012	7:46	1	30	1500,00	4	375,00	622,00	0,60	1	39	2	81,134	1,6	32	sobrepeso	1	10	3020	788	13	27/06/2012	23,32
189	27/06/2012	11:45	1	21	1000,00	5	200,00	622,00	0,32	1	39	1	65,116	1,57	26	adequado	1	9	3700	670	14	28/06/2012	20,25
191	28/06/2012	7:40	1	20	800,00	7	114,29	622,00	0,18	1	38	1	70,186	1,62	27	adequado	1	9	3546	804	14	29/06/2012	24,5
194	02/07/2012	9:15	1	31	3000,00	4	750,00	622,00	1,21	1	38	2	65,165	1,65	24	baixo peso	1	9	2744	510	5	03/07/2012	23,08
196	02/09/2012	9:40	1	25	622,00	6	103,67	622,00	0,17	1	38	4	65,143	1,65	24	baixo peso	1	9	2690	486	7	03/07/2012	22,5

206	06/07/2012	8:15	1	23	1200,00	7	171,43	622,00	0,28	1	39	3	68,187	1,65	25	adequado	1	10	2764	620	12	07/07/2012	23,17
208	06/07/2012	10:49	1	20	1800,00	5	360,00	622,00	0,58	1	39	1	60,176	1,56	25	baixo peso	1	10	2688	460	10	07/07/2012	20,43
214	11/07/2012	7:40	1	29	2000,00	4	500,00	622,00	0,80	1	38	2	99,100	1,65	36	obesa	1	10	3004	494	7	12/07/2012	23,75
215	11/07/2012	9:10	1	28	622,00	4	155,50	622,00	0,25	1	40	4	83,080	1,64	31	sobrepeso	1	10	3726	664	12	12/07/2012	22,17
216	11/07/2012	11:05	1	30	950,00	6	158,33	622,00	0,25	1	40	6	71,100	1,75	23	baixo peso	1	10	3446	464	8	12/07/2012	19,92
221	07/08/2012	8:15	1	24	622,00	6	103,67	622,00	0,17	1	40	2	57,080	1,64	21	baixo peso	1	10	3424	864	14	08/08/2012	23,92
223	07/08/2012	12:02	1	28	1200,00	5	240,00	622,00	0,39	1	39	3	91,187	1,74	30	sobrepeso	1	9	3920	780	13	08/08/2012	20,13
225	08/08/2012	12:35	1	24	1000,00	3	333,33	622,00	0,54	1	39	1	70,465	1,5	31	sobrepeso	1	9	3372	652	12	09/08/2012	19,92
228	14/08/2012	10:28	1	21	3000,00	6	500,00	622,00	0,80	1	39	3	107,090	1,65	39	obesa	1	10	4228	974	12	15/08/2012	21,7
229	14/08/2012	11:30	1	30	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	37	3	60,154	1,59	24	baixo peso	1	10	3336	700	10	15/08/2012	21,5
230	14/08/2012	11:55	1	20	1244,00	5	248,80	622,00	0,40	1	41	1	82,187	1,8	25	adequado	1	10	3458	700	13	15/08/2012	20,58
231	15/08/2012	9:45	1	31	622,00	5	124,40	622,00	0,20	1	39	4	58,195	1,6	23	baixo peso	1	9	3456	764	10	16/08/2012	21,08
232	15/08/2012	12:35	1	22	1400,00	5	280,00	622,00	0,45	1	40	2	58,167	1,65	21	baixo peso	1	9	2850	622	10	16/08/2012	18,42
235	20/08/2012	10:27	1	33	1800,00	4	450,00	622,00	0,72	1	37	3	78,321	1,65	29	sobrepeso	1	9	3110	420	7	21/08/2012	19,88
237	21/08/2012	10:44	1	26	652,00	7	93,14	622,00	0,15	1	40	3	64,198	1,6	25	adequado	1	9	3170	624	10	22/08/2012	19,93
239	22/08/2012	8:15	1	26	1244,00	3	414,67	622,00	0,67	1	38	1	63,700	1,6	25	adequado	1	10	3390	856	14	23/08/2012	22,58
240	23/08/2012	10:12	1	21	1200,00	6	200,00	622,00	0,32	1	41	1	59,185	1,6	23	baixo peso	1	9	3456	644	9	23/08/2012	20,63
242	24/08/2012	12:03	1	29	2000,00	4	500,00	622,00	0,80	1	38	1	86,543	1,7	30	sobrepeso	1	10	3240	464	8	25/08/2012	18,95
243	27/08/2012	9:20	1	25	622,00	3	207,33	622,00	0,33	1	41	1	79,167	1,65	29	adequado	1	9	3168	560	10	28/08/2012	21,42
247	29/08/2012	8:55	1	22	1800,00	4	450,00	622,00	0,72	1	39	3	74,010	1,66	27	adequado	1	10	3062	764	12	30/08/2012	21,58
250	30/08/2012	11:19	1	22	800,00	4	200,00	622,00	0,32	1	40	2	58,900	1,54	25	baixo peso	1	10	2986	422	7	31/08/2012	19,18

Am – Amostra; RFPC – renda familiar *per capita*; N^o – número; SM - salário mínimo; IG - Idade Gestacional; m - metro; IMC - Índice de Massa Corporal; RN – Recém-nascido.

Apêndice 7 - Descrição dos resultados de IgG total (mg/dL); IgG anti-*S. aureus* (UA/mL), IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* (título), IgA total (g/L) e IgA anti-*S. aureus* (UA/mL) em amostras de soro das mães, amostras de soro de cordão umbilical de seus respectivos recém-nascidos e amostras de colostro do grupo Caso.

N° Am	IgG Total (mg/dL)			IgG Anti- <i>Staphylo</i> (UA/mL)					IgG1 Anti- <i>Staphylo</i> (título)			IgG2 Anti- <i>Staphylo</i> (título)			IgA Total (g/L)	IgA Anti- <i>Staphylo</i> (UA/mL)	Avidez IgA Mãe (M)
	IgG Mãe	IgG RN	TP (%)	IgG Mãe	Avidez IgG Mãe (M)	IgG RN	Avidez IgG RN (M)	TP (%)	IgG1 Mãe	IgG1 RN	TP (%)	IgG2 Mãe	IgG2 RN	TP (%)			
5	1004	1174	116,9	1540,0	1,8	1372,0	1,8	89,1	<1:2	<1:2	100,0	1:1871	1:1546	82,6	274,6	4019,0	
10	1043	1450	139,0	65,0	1,2	91,0	1,9	140,0	1:2	1:19	950,0				217,6	4165,8	
21	1626	1010	62,1	366,7		271,1		73,9				1:1154	1:314	27,2	373,2	4433,8	
23	1263	1205	95,4	116,0		94,6		81,6							95,6	30809,2	3,7
25	1107	917	82,8	211,8		103,1		48,7	<1:2	1:4	400,0				359,5	3346,7	
31	1245	1054	84,7	181,5		115,8		63,8	<1:2	<1:2	100,0				163,3	5129,0	2,5
35	746	996	133,5	47,3	1,0	30,3	1,0	64,1							17,85	1608,8	
37	1266	1421	112,2	159,0		100,6		63,3	1:3	1:4	133,3				116,2	2077,8	
43	1369	1245	90,9	1874,1	1,5	648,3	1,5	34,6							0,06	0,0	
44	1085	1114	102,7	79,8		71,1		89,1	<1:2	<1:2	100,0				173,9	2907,2	
47	1162	1023	88,0	225,7		158,3		70,1							70,5	4377,6	
52	1164	1027	88,2	332,8		171,9		51,7	<1:2	<1:2	100,0	1:419	1:213	50,8	340,15	14864,2	2,3
57	865	905	104,6	2409,6	2,0	1797,6	2,3	74,6							116,3	5696,0	
62	956	965	100,9	861,7		559,8		65,0							54,3	1403,1	2,0
72	941	1000	106,3	99,8		84,9		85,1	1:3	1:5	166,7	1:410	1:227	55,4	240,5	1310,4	1,5
78	1026	853	83,1	799,9	1,0	353,2	1,4	44,2							-	-	
86	1138	1034	90,9	1678,3	1,6	892,3	1,8	53,2							143,45	7925,9	
87	932	1063	114,1	461,8		388,7		84,2	1:3	1:14	466,7	1:917	1:522	56,9	191,15	3580,8	
91	896	1017	113,5	765,6		512,1		66,9	<1:2	1:5	500,0				91,9	1500,7	2,9
93	937	1068	114,0	188,3		143,7		76,3	1:4	1:9	225,0	1:283		0,0	323,6	2756,2	
95	1338	1298	97,0	349,7		262,75		75,1							51,3	2056,3	

123	1272	1036	81,4	363,2		192,45		53,0	<1:2	<1:2	100,0	1:604	1:318	52,6	40,3	1235,9	2,2
127	599	666	111,2	1279,0		896,0		70,1	<1:2	<1:2	100,0	1:713	1:557	78,1	-	-	
129	1027	1126	109,6	210,1		163,5		77,8	1:15	1:17	113,3	1:460	1:263	57,2	228,5	4308,0	
133	1613	1525	94,5	1531,5		871,7		56,9	<1:2	1:5	500,0	1:1622	1:1002	61,8	110,8	1489,0	4,0
134	972	869	89,4	77,6	1,0	48,6	1,1	62,6							108,9	3581,3	
145	775	1366	176,3	268,25		226,4		84,4	<1:2	1:14	1400,0	1:1441	1:1848	128,2	215,0	8346,4	
147	856	1502	175,5	207,9		210,0		101,0	<1:2	1:6	600,0				248,5	11538,0	
148	1113	926	83,2	224,4		130,2		58,0	1:9	1:17	188,9	1:1467	1:1018	69,4	85,7	668,5	1,5
152	1291	1026	79,5	324,8		201,4		62,0	1:8	1:10	125,0				188,5	3715,0	
153	1312	1085	82,7	152,2		90,6		59,5	1:7	1:14	200,0	1:1052	1:450	42,8	92,0	12103,8	2,6
156	861	911	105,8	173,3		98,4		56,8	1:17	1:19	111,8	1:1722	1:1520	88,3	270,0	18172,8	1,3
157	791	825	104,3	539,3	1,3	375,0	1,5	69,5							54,7	2337,8	
160	846	1113	131,6	257,1		240,0		93,3				1:1549	1:1474	95,2	281,8	5262,5	2,7
171	1069	993	92,9	276,7		132,6		47,9	1:6	1:7	116,7	1:801	1:1283	160,2	378,6	2648,9	
185	1271	1216	95,7	644,6	1,0	367,6	0,9	57,0							165,9	5177,1	2,6
190	848	1002	118,2	77,3	1,5	55,0	1,4	71,2							95,5	1538,6	1,9
195	977	1210	123,8	317,0		291,2		91,9							55,3	1876,6	
207	679	1008	148,5	520,75	2,3	427,25	2,0	82,0							375,55	5661,9	2,7
224	1105	1480	133,9	396,2	3,5	371,0	3,7	93,6							312,2	6097,2	
226	1074	994	92,6	315,65		224,7		71,2	1:11	1:16	145,5	1:1461	1:1489	101,9	130,0	6403,7	
227	891	880	98,8	1236,7		735,9		59,5	1:11	1:18	163,6				342,6	13197,4	3,1
233	1142	1053	92,2	602,6		250,0		41,5	1:12	1:17	141,7	1:1477	1:1076	72,9	152,5	2372,1	
234	783	1098	140,2	1204,6	1,4	1107,3	1,2	91,9							120,4	4666,0	1,8
241	849	966	113,8	70,4		74,1		105,3							126,4	1653,2	
244	1126	777	69,0	67,5	1,5	44,8	1,8	66,4							107,8	3156,9	
245	1157	1448	125,2	570,05	1,4	456,0	1,4	80,0							322,3	6925,4	
246	1075	1017	94,6	792,7		528,1		66,6							-	-	
249	1127	1098	97,4	95,7	0,9	46,8	0,7	48,9							263,4	4253,9	

Am – Amostra; TP – Taxa de passagem; RN – Recém-nascido; M – Molaridade.

Apêndice 8 - Descrição dos resultados de IgG total (mg/dL); IgG anti-*S. aureus* (UA/mL), IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* (título), IgA total (g/L) e IgA anti-*S. aureus* (UA/mL) em amostras de soro das mães, amostras de soro de cordão umbilical de seus respectivos recém-nascidos e amostras de colostro do grupo Controle.

N° Am	IgG Total (mg/dL)			IgG Anti- <i>Staphylo</i> (UA/mL)					IgG1 Anti- <i>Staphylo</i> (título)			IgG2 Anti- <i>Staphylo</i> (título)			IgA Total (g/L)	IgA Anti- <i>Staphylo</i> (UA/mL)	Aidez IgA Mãe (M)
	IgG Mãe	IgG RN	TP (%)	IgG Mãe	Aidez IgG Mãe (M)	IgG RN	Aidez IgG RN (M)	TP (%)	IgG1 Mãe	IgG1 RN	TP (%)	IgG2 Mãe	IgG2 RN	TP (%)			
4	794	1035	130,4	303,65		193,0		63,6	1:15	1:16	106,7	1:564	1:493	87,4	280,3	10013,8	2,8
7	759	689	90,8	137,8		108,2		78,5							242,4	6719,0	
11	1095	1098	100,3	167,6		127,3		76,0	1:6	1:16	266,7	1:1558	1:1529	98,1	16,8	250,4	2,8
12	729	846	116,0	140,0		164,2		117,3	1:4	1:27	675,0				166,9	3034,8	
20	1082	1222	112,9	156,2		175,2		112,2	1:2	1:2	100,0	1:1255	1:558	44,5	87,2	1595,3	
22	848	1007	118,8	670,7		662,8		98,8	1:10	1:20	200,0	1:2101	1:2185	104,0	110,1	2323,2	
24	930	1167	125,5	71,0		62,6		88,2	1:17	1:21	123,5	1:1237	1:200	16,2	206,4	15844,3	
26	1036	1276	123,2	144,1		164,1		113,9	1:5	1:17	340,0	1:582	1:532	91,4	212,5	1442,3	
27	832	1029	123,7	279,9		209,7		74,9				1:834	1:393	47,1	312,6	725,5	2,5
28	922	1235	133,9	65,7		51,4		78,2	1:2	1:6	300,0	1:401	1:269	67,1	97,4	1538,9	
30	880	1167	132,6	110,3		75,8		68,7	1:9	1:12	133,3				157,3	3073,3	
34	871	931	106,9	276,0		241,6		87,5	<1:2	<1:2	100,0	1:1226	1:682	55,6	38,2	345,7	1,8
36	969	908	93,7	482,4	1,0	187,9	1,0	39,0							126,5	15303,8	
38	764	998	130,6	566,2		460,4		81,3	1:16	1:18	112,5	1:1889	1:1571	83,2	147,3	1108,3	
39	887	889	100,2	1118,5		635,1		56,8	1:9	1:12	133,3	1:2111	1:1487	70,4	159,2	4519,6	
42	840	935	111,3	235,6		198,4		84,2	1:4	1:4	100,0	1:1854	1:1438	77,6	172,35	1096,6	2,8
45	999	974	97,5	206,1		125,5		60,9							234,0	2429,9	
46	1014	856	84,4	1125,2		714,6		63,5	1:2	1:6	300,0	1:1839	1:1320	71,8	245,45	21640,3	
48	1062	1124	105,8	834,0		545,8		65,4	1:5	1:5	100,0				155,9	10426,9	
49	575	884	153,7	587,5		501,5		85,4	<1:2	1:12	600,0	1:1730	1:1490	86,1	155,5	24023,2	2,1

50	959	959	100,0	676,1		270,0		39,9							228,6	1490,2	
51	668	827	123,8	40,8	1,6	48,1	1,2	117,9							64,4	1001,1	2,0
53	784	780	99,5	1170,6		618,7		52,9				1:1011	1:404	40,0	443,4	13674,8	
56	1082	952	88,0	206,9		240,1		116,0							116,0	10441,7	
58	879	928	105,6	499,3	1,1	285,0	1,3	57,1							206,3	2869,6	
60	691	1250	180,9	139,8		130,8		93,6	1:7	1:16	228,6	1:505	1:535	105,9	207,3	3824,1	
63	956	1095	114,5	162,2		275,15		169,6				1:433	1:404	93,3	204,9	6621,7	
71	1231	1123	91,2	770,8	2,7	346,6	3,2	45,0							239,0	10108,3	
73	1037	1083	104,4	97,1	1,1	47,9	1,2	49,3							108,8	6009,7	
77	807	945	117,1	153,1		160,5		104,8				1:1573	1:1598	101,6	126,8	5704,5	
79	275	853	310,2	211,0		467,1		221,4	1:2	1:19	950,0	1:320	1:461	144,1	136,2	5089,0	
80	644	927	143,9	322,0		290,2		90,1	<1:2	1:5	250,0	1:1541	1:1206	78,3	196,6	14664,2	
82	799	838	104,9	332,0		260,4		78,4	1:14	1:16	114,3	1:1575	1:1175	74,6	127,5	10720,7	
85	691	838	121,3	262,5		209,3		79,7	1:10	1:15	150,0				66,8	3586,7	
88	679	989	145,7	246,7		264,9		107,4	1:7	1:15	214,3				107,0	1781,4	
89	1040	1120	107,7	179,1		158,0		88,2	1:15	1:17	113,3	1:434	1:275	63,4	110,0	25224,3	2,6
90	706	827	117,1	930,05		576,2		62,0				1:1883	1:1412	75,0	124,9	2808,3	
92	979	1142	116,6	301,5		263,0		87,2	1:10	1:15	150,0				41,6	5465,4	
94	525	794	151,2	54,4	1,3	77,3	1,2	142,1							60,3	1816,1	
96	1241	1232	99,3	202,8		172,7		85,2				1:1346	1:794	59,0	168,3	3396,3	
97	892	943	105,7	803,9		880,5		109,5	1:12	1:17	141,7				60,2	2784,1	
98	1119	984	87,9	96,45		56,1		58,2	<1:2	<1:2	100,0				226,2	5223,8	
99	1172	1069	91,2	69,0	0,9	45,2	0,8	65,5							79,1	941,4	1,9
122	766	1385	180,8	561,8		765,8		136,3	1:7	1:17	242,9	1:1395	1:1370	98,2	82,9	7429,9	
124	1232	1395	113,2	789,1		479,1		60,7	1:5	1:5	100,0				86,6	2164,5	
126	933	1424	152,6	246,7		225,85		91,5	1:12	1:16	133,3	1:567	1:1060	186,9	309,5	30404,7	2,6
130	766	1106	144,4	828,2		809,4		97,7	<1:2	<1:2	100,0				271,8	5659,1	
131	1149	893	77,7	1178,5		581,0		49,3	1:18	1:19	105,6				106,7	4776,1	
132	1704	1307	76,7	806,9		655,8		81,3	<1:2	1:11	550,0	1:1303	1:1514	116,2	297,5	4737,1	
136	969	1047	108,0	131,5		80,2		61,0	1:9	1:13	144,4	1:301	1:200	66,4	189,2	3104,0	
137	856	747	87,3	540,2		316,6		58,6	1:20	1:18	90,0	1:904	1:380	42,0	44,2	1338,6	

138	1218	1331	109,3	580,5		460,8		79,4							96,0	5017,8	
141	1433	1219	85,1	803,5		460,1		57,3	1:8	1:18	225,0	1:1768	1:1464	82,8	181,1	6725,4	
143	1646	1330	80,8	634,1		444,3		70,1							52,7	3063,2	
146	1195	1560	130,5	925,1		248,9		26,9							93,4	4869,4	
150	968	1105	114,2	643,5		551,3		85,7	1:8	1:11	137,5	1:1466	1:1610	109,8	97,4	2531,2	
151	979	1319	134,7	747,1		694,0		92,9	1:12	1:19	158,3				123,6	10757,5	
154	1003	1356	135,2	157,2		185,8		118,2	1:7	1:11	157,1	1:1547	1:875	56,6	137,1	1847,8	
155	1170	1273	108,8	312,7	1,3	344,1	1,2	110,0							103,5	4168,0	
158	854	945	110,7	833,0		562,7		67,6	1:15	1:23	153,3				59,5	4401,6	
159	805	977	121,4	424,9	0,9	480,35	1,3	113,1							175,1	12367,4	
161	919	969	105,4	902,2		725,6		80,4				1:1335	1:859	64,3	139,9	11476,2	
162	680	1013	149,0	252,9		299,0		118,2	<1:2	1:4	200,0	1:2936	1:3040	103,5	23,4	8493,6	2,3
163	1066	1112	104,3	238,2		174,2		73,1				1:945	1:602	63,7	129,3	32899,6	2,5
164	691	902	130,5	1210,5	1,5	1317,2	1,5	108,8							160,3	17750,6	
165	1091	1308	119,9	365,4		281,8		77,1	1:15	1:17	113,3	1:1193	1:841	70,5	192,0	12523,3	
166	760	1167	153,6	563,4		507,2		90,0				1:3061	1:3261	106,5	99,2	9569,2	2,1
167	894	764	85,5	279,3		154,4		55,3	1:14	1:16	114,3	1:2483	1:792	31,9	202,0	5450,1	
168	1328	1057	79,6	2575,3	1,7	1226,1	1,9	47,6							264,3	8296,0	
170	1114	1326	119,0	968,9		934,0		96,4				1:3689	1:3303	89,5	225,6	16653,6	
172	857	848	98,9	1765,2	1,1	1458,2	1,1	82,6							101,8	1526,4	
184	890	1053	118,3	262,5		191,1		72,8	1:15	1:15	100,0	1:3651	1:2922	80,0	17,4	781,6	2,7
186	901	1293	143,5	209,65		256,4		122,3	1:17	1:18	105,9	1:3011	1:2949	97,9	114,3	26604,6	1,2
189	1098	1176	107,1	231,7		188,9		81,5				1:3193	1:1561	48,9	93,6	6492,0	
191	991	1240	125,1	1165,0		86,0		7,4							112,1	8258,2	
194	822	998	121,4	35,3	1,1	74,25	1,2	210,3							70,3	11637,8	
196	1003	1523	151,8	273,5		300,6		109,9							49,2	2047,9	
206	1219	1382	113,4	1116,6		982,5		88,0							254,5	146883,4	
208	944	867	91,8	456,5	1,2	266,4	1,2	58,4							283,2	13430,3	
214	1167	916	78,5	140,4		73,75		52,5							251,0	6656,6	
215	790	955	120,9	122,6		98,8		80,6							99,2	6705,0	
216	1180	963	81,6	524,2	1,6	264,5	1,8	50,5							14,5	2365,5	

221	630	1080	171,4	66,35		74,2		111,8							28,0	4920,8	
223	930	970	104,3	1338,1	2,9	1199,6	2,9	89,6							48,8	12070,5	
225	750	1093	145,7	340,4		306,65		90,1							108,3	3734,1	
228	1012	1015	100,3	225,2		132,2		58,7							180,6	15650,4	
229	959	783	81,6	393,7		216,5		55,0							228,4	17628,3	
230	990	1022	103,2	242,2		165,9		68,5							78,2	21595,6	
231	781	973	124,6	848,75		818,4		96,4							49,2	3930,9	
232	1283	1515	118,1	178,0		145,0		81,5							28,3	9964,4	1,8
235	829	972	117,2	309,1		203,8		65,9							156,9	36938,4	2,1
237	1407	1974	140,3	698,7		617,2		88,3							68,8	3746,7	
239	857	930	108,5	160,5		149,1		92,9							116,2	6473,5	
240	1113	2200	197,7	405,0	2,0	348,8	2,0	86,1							142,1	6771,2	
242	983	1242	126,3	757,95	2,3	376,95	2,7	49,7							76,5	6197,3	
243	1052	1157	110,0	638,1		444,6		69,7							253,9	3332,4	
247	988	1125	113,9	1292,6		819,9		63,4							60,6	2687,8	
250	841	1974	234,7	167,7		171,8		102,4							116,4	4860,2	

Am – Amostra; N° – número; TP – Taxa de passagem; RN – Recém-nascido; M – Molaridade.

ANEXOS

Anexo 1 - Termo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da USP

CIÊNCIA

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em **25.07.11** tomou ciência do Projeto nº **316/11** intitulado **“Avaliação da colonização nasal materna por Staphylococcus aureus e a transmissão passiva para o recém-nascido de anticorpos IgG e IgA específicos através da passagem transplacentária e aleitamento materno”**, vinculado à pós-graduação do Departamento de Pediatria, que não envolverá atividade prática e/ou experimental no âmbito da Faculdade de Medicina ou Instituto do Câncer do Estado de São Paulo e que conta com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller, onde o projeto será executado.

Pesquisador(a) Responsável: Patricia Palmeira

Pesquisador(a) Executante : Maria Isabel Valdomir Nadaf

CEP-FMUSP, 25 de julho de 2011.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

**Anexo 2 - Termo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital
Universitário Júlio Müller da UFMT**

Ministério da Educação
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JÚLIO MÜLLER

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller
Registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em 25/08/97

**TERMO DE APROVAÇÃO ÉTICA
DE PROJETO DE PESQUISA**

REFERÊNCIA: Projeto de protocolo Nº 936/CEP- HUJM/2010

"COM PENDÊNCIAS" ☐
APROVADO "ad referendum" ☐
APROVAÇÃO FINAL ☒
NÃO APROVADO ☐

O projeto de pesquisa intitulado: "Avaliação da colonização nasal materna por *Staphylococcus aureus* e a transmissão passiva para o recém-nascido de anticorpos IgG e IgA específicos através da passagem transplacentária e aleitamento materno," encaminhada pelo (a) pesquisador (a) **Maria Isabel Valdomir Nadaf** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM, em reunião realizada dia 13/10/2010 que concluiu pela aprovação final, tendo em vista que atende a Resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos.

Cuiabá, 13 de Outubro de 2010.

Prof. Dra. Shirley Ferreira Pereira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM

Hospital Universitário Júlio Müller
Avenida Fernando Corrêa da Costa, Nº 2367 Bairro Boa Esperança - Cuiabá - MT, Brasil
CCBS I - 1º Piso - Universidade Federal de Mato Grosso
Fone: 65-3615-8254. e-mail: cephujm@cpd.ufmt.br
http://www.ufmt.br/cep_hujm

Anexo 3 - Artigo submetido

Passive acquisition of anti-*Staphylococcus aureus* IgG and IgA antibodies by the newborn via placental transfer and breastfeeding in mothers with and without nasal colonization

Maria Isabel Valdomir Nadaf,^{1,2} Laila Lima,² Olga Akiko Takano,¹ Magda Carneiro-Sampaio,² and Patricia Palmeira,^{2,3}

¹Dep. Pediatrics, Federal University of Mato Grosso (UFMT);

²Dep. Pediatrics, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;

³Laboratory of Medical Investigation (LIM-36), Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, São Paulo, Brazil.

Dr. Maria Isabel Valdomir Nadaf

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso

Rua Luís Philippe Pereira Leite, s/n. Bairro: Alvorada,

CEP: 78048-902, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil

Fax: +55-65-3615-7320

e-mail: gugubibi@gmail.com

“The author(s) declare(s) that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.”

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Avidity, Antibody, Colostrum, Pregnancy, Placenta

Abstract

In the newborn, colonization by *S. aureus* (Sa) occurs early and passive acquisition of maternal antibodies could contribute to neonate protection. The aim was to investigate the transmission of anti-Sa IgG and IgA via placental transfer and colostrum, according to maternal Sa carrier status during delivery. A 19.6% nasal Sa prevalence was detected. We evaluated anti-Sa IgG in maternal and cord sera and IgA in colostrum from case group (n=49, Sa⁺) and control group (n=98, Sa⁻). Anti-Sa IgG concentrations in maternal and cord sera did not differ between groups, but case group showed lower anti-Sa IgG1 titers than controls with good placental transfer ratios to the newborn in both groups. Anti-Sa IgG2 titers were significantly higher than IgG1 in maternal and cord sera, and newborns presented lower levels than their mothers and no differences between groups. Sa-specific IgA levels in colostrums were independent of maternal carrier status, but higher avidity indexes of anti-Sa IgA antibodies were detected in colostrum compared with serum IgG. The higher anti-Sa IgG2 levels found in neonates, ie antibodies with low opsonizing activity, reiterates the greater susceptibility of newborns to this pathogen. The greater avidity index of specific colostrum IgA reinforces the importance of breastfeeding in neonatal period.

1. Introduction

Among the bacteria that colonize mucous membranes of pregnant women and, soon after birth, their newborns (NB), is *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). In the neonatal period, *S. aureus* has been associated with infections of variable severity, as nosocomial outbreaks of neonatal impetigo [1], omphalitis [2], arthritis and osteomyelitis [3], late neonatal sepsis nosocomial or community-acquired [4-6], and the sudden infant death syndrome [7, 8].

Colonization studies of paired mother and child show that, from birth, children from mothers with *S. aureus* nasal carriage have become more colonized by this microorganism than children from non-colonized mothers, with high genomic concordance between maternal and newborn *S. aureus* strains [9-11].

S. aureus, after passing across epithelial barriers is destructed in the processes of phagocytosis and bacterial killing, with significant involvement of neutrophils [12, 13]. Placental transfer of serum IgG and IgA transmission in the colostrum from the mother to her newborn may contribute to the processes of bacterial neutralization and exclusion and establishment of the intestinal microbiota [14, 15]. Since newborn neutrophils have reduced response of chemotaxis, phagocytosis, and oxidative "burst" [6] and, in addition, the acquired immune response is still being developed, the passive transfer of maternal antibodies may improve the opsonophagocytic capacity of the newborn against *S. aureus* [7].

In the present study, in order to a better understanding of passive protection provided by the mother, we investigated whether mothers can provide to their infants *S. aureus*-specific antibodies, according to their nasal carrier status. Particularly, we evaluated the presence of anti-*S. aureus* antibodies in maternal and cord sera, or colostrum, and evaluated whether maternal carrier status during delivery had any influence on the amount

and nature of the antibody, since the nature of the antibody transmitted to the newborn, ie the predominant antibody subclass or antibody avidity could interfere with the effectiveness of placental transfer and newborn protection.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

This is a cross-cohort study of paired parturients and their term newborns with (n=49) and without (n=98) nasal colonization by *S. aureus*. The mothers were selected at two maternity wards of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil, during the period from august/2011 to september/2012 according to the following inclusion criteria: healthy mothers older than 20 years old with their healthy newborns with gestational age between 37 and 41 6/7 weeks, established by Capurro method (1978), Apgar > 7 in the 5th minute and of adequate weight for gestational age. The exclusion criteria included: placental malformation, chronic diseases, severe infectious disease either during pregnancy or during the delivery period and positive serology for conventional serologic tests. Samples were used after informed consent and the approval of the Ethics Comitee of the University Hospital (Protocol 936/CEP-HUJM/2010) and by the Research and Ethics Committee of the Department of Pediatrics of São Paulo University School of Medicine and by the Ethics Committee for the Analysis of Projects and Research of the Hospital das Clínicas (Project 316/11). All guidelines for human experimentation were followed.

Blood samples and nasal swab were collected from the mothers shortly before delivery and blood samples from their respective newborn's umbilical cords immediately after delivery from a large vein on the fetal side of the placenta. The sera were separated, aliquoted and stored at -80°C until used. Colostrum samples were collected 24 hours after delivery. Samples were defatted by centrifugation and the liquid phase was stored in aliquots at -80°C.

Two control pools were used: a human serum pool prepared with serum from healthy 18-40 year-old blood donors with negative results for conventional serologic tests, and a human colostrum pool prepared with colostrum from healthy mothers; both were already available in our laboratory.

2.2. S. aureus isolation and identification

Nasal swab from all parturients were placed in Stuart medium (Absorve®) for transport and inoculated in mannitol salt agar for 24 hours at 35°C. The identification of *S. aureus* colony forming units (UFC) and antimicrobial susceptibility tests by minimal inhibitory concentration (MIC) were performed in automated method in Vitek 2 equipment (Biomerieux®). The *S. aureus* strain used in this study, ISA35, was isolated from one of the cases of the community, with 99% identity with *S. aureus*, and defined as a methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA).

2.3. Total serum IgG and colostrum IgA determination

Total IgG concentrations were measured in maternal and umbilical cord serum using the immunoturbidimetry technique. The results were expressed in mg/dL. Total IgA antibodies present in the maternal colostrum were measured by ELISA as previously described [16] and the results expressed in g/L.

2.4. Anti-S. aureus IgG and IgA determination

Anti-Sa IgG concentrations in maternal and cord serum, and anti-Sa IgA concentrations in colostrum were determined by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) as described by CARBONARE et al. (1996) [17] with some modifications. In brief, an overnight culture of *S. aureus* grown in BHI broth at 37°C was inactivated, centrifuged and resuspended in EDAC (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride) 1% solution in distilled water to an optical density (OD) of 0.8 at 540nm. An aliquot of 100µl of

this suspension was used in each well for coating microplates (Costar, Cambridge, MA) which were maintained for 16 to 18h at 37°C. After blocking with 1% non-fat milk, samples or pools were incubated in duplicate in four serial dilution steps for 2h at 37°C. The plates were incubated with peroxidase-conjugated anti-human IgG or anti-human IgA (Sigma, St. Louis, MO) for 90 min at 37°C and the reaction was developed and read at 492 nm. Plates were washed with PBS–Tween 0.1% between each step. Anti-Sa IgG and IgA concentrations were expressed as arbitrary units (AU/ml) obtained by comparison to the OD values of the serum or colostrum pool, both defined to contain 1000 AU/ml of anti-Sa IgG or IgA, respectively.

2.5. Serum anti-S. aureus IgG1 and IgG2 subclasses

After, blocking, paired maternal and cord serum samples were added in duplicate at four serial dilution steps for 2h at 37°C on Sa-coated plates. As secondary antibody, biotinylated anti-human IgG1 (555869; BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) or IgG2 (555874; BD Pharmingen) were used both at dilutions of 1:500, and incubated for 1.5 h. This step was followed by incubation with streptavidin-HRP (554066; BD Pharmingen) diluted 1:500 for 1.5 h. The reaction was finished as previously described. Anti-Sa IgG1 and IgG2 titers were determined as the reciprocal of sample dilution corresponding to an OD of 0.5. We chose to express anti-Sa IgG subclass results in titers because, by this calculation, we could compare the results of IgG1 with IgG2 for each sample.

2.6. Anti-S. aureus IgG and IgA antibodies' avidity indexes

Avidities of anti-Sa IgG and IgA antibodies in maternal and cord sera, and in maternal colostrum samples were determined by elution with different molarities (M) of potassium thiocyanate (0.0–4.0 M) according to technique described by Jones et al. (1987) [18]. The results were expressed as the molarity of potassium thiocyanate necessary to elute 50% of the bound antigen-antibody complexes.

2.7. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Graphpad Prism version 5.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The significance of differences between two medians was analyzed using the Wilcoxon signed rank test for related data and the Mann–Whitney test for unrelated data. The significance level was set at $p < 0.05$ for all analyses. Placental transfer ratios of the total and specific antibodies were defined in each assay as the ratio of cord concentrations/maternal concentrations x 100.

3. Results

3.1. Characteristics of the Study Population

Two hundred and fifty parturients were selected for this study. Of the 250 women, 49 (prevalence of 19.6%) were nasally colonized with *S. aureus* and consisted in the case group. Two hundred and one (80.4%) had negative nasal cultures, and ninety eight women of these group were selected as control group. The demographic characteristics of the two groups are summarized in Table 1.

3.2. Total IgG Concentrations and Placental Transfer Ratios

The descriptive statistical analysis is summarized in Table 2. Maternal sera from case Group showed significantly higher IgG concentrations when compared with maternal sera from control group (Table 2). No statistically significant differences were detected in medians among newborns from case and control groups. Significantly lower placental transmission of total IgG antibodies was detected in case group as compared with control group (Figure 1a).

3.3. Anti-*S. aureus* IgG Concentrations and Placental Transfer Ratios

The Wilcoxon analyses demonstrated significantly lower anti-Sa IgG concentrations in newborns from case and control group than seen in their respective mothers. The Mann-Whitney analyses revealed no significant differences in anti-Sa IgG concentrations between mothers and between newborns from case and control groups (Table 2). Anti-Sa IgG transfer ratio was significantly lower in case group as compared with control group (Figure 1b).

3.4. Anti-S. aureus IgG1 and Ig2 Titers and Placental Transfer Ratios

The Wilcoxon analyses demonstrated significantly higher anti-Sa IgG1 titers in newborns from case and control group than seen in their respective mothers ($p < 0.0001$), whereas the analysis of anti-Sa IgG2 showed lower levels in newborns from both groups when compared with their mothers (Figure 2).

Anti-Sa IgG1 titers in maternal sera from case group were lower as compared with maternal sera from control group ($p < 0.01$). The same was observed when neonates from case group were compared with neonates from control group ($p < 0.05$) (Figure 2a).

Regarding anti-Sa IgG2 titers, no differences were detected between maternal sera from both groups, as well as between newborns from both groups (Figure 2b).

As revealed by Wilcoxon analyses, in Figure 3, the comparison between anti-Sa IgG1 and IgG2 titers showed significantly higher IgG2 levels in both maternal sera (Figure 3a) and cord sera (Figure 3b) from both groups as compared with their respective anti-Sa IgG1 levels.

No statistically significant differences were detected in medians of anti-Sa IgG1 placental transfer ratios between case and control groups, neither when placental transfer ratios of anti-Sa IgG2 were analyzed. Alternatively, case and control groups revealed significant higher anti-Sa IgG1 placental transfer ratios when compared with those of IgG2 (Figure 4).

3.5. Total and anti-S. aureus IgA concentrations in colostrum

Although all colostrum samples were collected within 24 hours post-partum (range=21.4 hours), total IgA in colostrums showed a large range of variation. Significantly higher total IgA concentrations were seen in colostrum samples from case group as compared with control group ($p < 0.05$). Sa-specific IgA concentrations in maternal colostrum were equivalent between groups (Table 3).

3.6. Avidity indexes of anti-S. aureus IgG and IgA

In both, case and control groups, avidity indexes of anti-Sa IgG antibodies did not differ between maternal and cord serum samples. The same was observed for the avidity indexes of anti-Sa IgA in colostrum samples, which did not show differences between case and control groups.

On the other hand, the comparison between avidity indexes of anti-Sa IgG in sera and anti-Sa IgA in colostrums showed that IgA avidity indexes were higher than IgG from both groups.

4. Discussion

In the present study, the placental transfer of total IgG agrees with current literature describing in healthy full-term pregnancies positive IgG placental transfer ratios for the newborn. This phenomenon has been described as a result of transcytosis mechanism of IgG bound to the FcRn receptor at the syncytiotrophoblast of the placenta, and the pH-dependent binding of IgG to FcRn allows for IgG transport through a cell layer and down a concentration gradient of IgG. When the mother has a high content of total IgG or of a specific antibody, the neonatal value usually remained below the maternal one. This inverse relationship between the efficiency of placental transfer to the respective maternal level was also demonstrated, since the amount of IgG transmitted depends on the amount

of cell surface receptors, and a lower placental transfer ratio is a result of the digestion of unbound IgG molecules by lysosomal enzymes inside the vesicles. Besides, human FcRn also binds to IgG with a 2:1 stoichiometry in solution. Therefore, the consensus of studies of the FcRn–Fc interaction across species points to a 2:1 FcRn:Fc stoichiometry [19-21].

Anti-staphylococcal IgG and IgA antibody levels and *Sa* antigenic diversity show great individual variability in healthy individuals, as well as in the presence of bacteremia [22, 23]. This variability has been attributed to strain characteristics, with their own arsenal of evasion mechanisms expressed in vivo, as well as how each host assembles the immune response to this bacterium [24].

The nose is the main ecological niche where *S. aureus* resides in human beings, since decolonization leads to failure to detect the bacteria in other locations such as the perineum, the skin and axilla [25]. However, *S. aureus* is a bacterium that, from the first hours of life, has been presented to the immune system of the human host, and isolated intestinal carriage may occur, since it is part of the host microbiota [26]. This routine meeting between humans and *S. aureus* allows healthy individuals to have high specific antibody levels, independent of nasal colonization at the time of measurement [22].

Since bacteria present in the anterior nares may interact with the nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT), it has been evaluated the possibility that nasal colonization could induce mucosal and systemic immune responses with high antibody titers and, thus, this could represent an inductor site proposed for the development of mucosal vaccines [14].

However, for systemic immune induction, nasal colonization on intact epithelium is apparently not sufficient for the induction of a strong serum antibody response [27, 28]. In this study, similar concentrations of anti-staphylococcal IgG antibodies were found in sera from mothers with and without bacterial nasal carriage, indicating that maternal anti-*S. aureus* IgG antibodies are related to previous contacts with this pathogen.

The fact that both groups presented lower placental transfer ratios of anti-staphylococcal antibodies than expected in an assay performed with whole bacteria, prompted us to extend our knowledge about the nature of antibodies reactive with this bacterium, through the evaluation of specific IgG subclasses transferred from the mother to newborn. Several studies demonstrate that the immune response in adults is predominantly composed by antibodies reactive to antigenic determinants of bacterial surface, such as lipoteichoic and teichoic acids, capsular polysaccharide, peptidoglycan, protein A, and other protein epitopes related to different stages of *S. aureus* pathogenesis, nevertheless, the greatest levels of neutralizing antibodies are predominantly directed to non-protein antigens [22, 29].

In the present study, lower anti-*S. aureus* IgG1 titers were detected in maternal and neonatal sera from case group compared to the control group, but similar placental transfer ratios between groups. This finding may be associated with the increased susceptibility to nasal colonization. However, a study with a larger sample and appropriate design will be required to evaluate this hypothesis.

Moreover, it has been described that antibodies of the IgG1 subclass reactive with capsular polysaccharides and another surface polysaccharide, poly-N-acetyl glucosamine, bound together via an apparent idiotype–anti-idiotype interaction, which may contribute to the lower titers of this subclass in serum samples [29].

Now, IgG2 titers did not differ in maternal and cord sera between case and control groups, but anti-*S. aureus* IgG2 titers were extremely higher compared to those of IgG1 in both groups.

JUNG et al (2012) [30] evaluated antibodies reactive with teichoic acid from *S. aureus* in adults and observed higher IgG2 antibody concentrations. Many reports have suggested that serum antibody-mediated opsonophagocytic bacterial killing is necessary to increase the bactericidal efficiency of the membrane attack complex of complement against

pathogenic Gram-positive bacterial infection [31]. Previous studies have suggested that the different human IgG subclasses differ in their ability to bind C1q and, therefore, have different abilities of activating the classical complement pathway. IgM antibodies and IgG1 and IgG3 subclasses are known to effectively act in these processes, whereas IgG2 shows a much weaker ability, and IgG4, IgA, IgD, and IgE are not capable of activating the classical pathway [32].

In our study, in order to compare anti-staphylococcal IgG1 results with those of IgG2 in each sample, the assays were carried out in the same conditions and the subclasses results were expressed in titers, which enabled us to expand our knowledge about the placental transfer of IgG reactive with *S. aureus*. Preferential transport occurs for IgG1, followed by IgG4, IgG3, and IgG2, for which the FcRn receptors have the lowest affinity [33].

Indeed, in this study, anti-*S. aureus* IgG1 placental transfer ratio was three-fold higher compared to those of IgG2. However, as maternal anti-staphylococcal IgG1 titers were much lower than those of IgG2, anti-*S. aureus* IgG2 titers in cord serum were about 20 times higher compared to those of IgG1, although the placental transfer ratio was much lower for IgG2.

This result highlights the importance of therapeutic strategies using the induction of immunity by vaccination or passive immunization, which should consider the subclass produced or administered, since IgG1 is known as the main subclass involved in the processes of opsonophagocytosis and innate immunity interaction with acquired immunity to deal with this bacteria.

The human nursing mother has the opportunity to transfer antibodies to her newborn from the first few minutes of life through breastfeeding, and the initial mammary secretion offered from birth until the fifth day of life, called colostrum, is referred for its high IgA content, known as the predominant immunoglobulin in human breast milk [34].

In pregnant women, due to the mucosal immune system and broncoenteromammary axis, secretory IgA produced by the mother against pathogens that colonize mucous membranes are offered to the newborn through the milk. Once *S. aureus* in the nasal site can interact with the nasopharynx lymphoid tissue, anti-staphylococcal IgA-producing B lymphocytes can migrate to the mammary gland, which will release specific IgA in breast milk [14].

KAWANO e EMORI (2013) [34], assessing secretory IgA concentrations in human milk, applied the same technique of milk withdrawal from the present study, using manual expression and in the morning period, found higher IgA concentrations in colostrum samples from 72 hours post-partum in primiparous women. In the present study, primiparity was higher in the control group; however total IgA concentrations in colostrum did not differ between primiparas and multiparas.

We found higher total IgA concentrations in the case group, but since there were no differences in anti-*S. aureus* IgA concentrations between groups, nasal colonization in healthy pregnant women and, therefore, with intact nasal epithelium, was not related to an increase of specific IgA in the 24 hour-colostrum. The evaluation of *S. aureus*-specific IgA avidity showed similar indexes between case and control groups and, therefore, it was also not associated with maternal nasal colonization.

However, the avidity indexes of anti-*S. aureus* IgA in colostrum samples were higher than those of serum IgG, which reinforces the importance of breastfeeding with adequate supply of colostrum, which will help in protecting the newborn during the initial contact with the bacteria in the early months of life.

The higher IgA avidity compared to IgG may be due to characteristics related to antigen-antibody interaction independent of the Fab fragment. Interaction of epitopes that can be recognized by mannose residues and the secretory component found in IgA molecules

have been described, and these characteristics make IgA, somehow, a component of innate mucosal immunity [35].

In conclusion, maternal nasal colonization by *S. aureus* during labor is not associated with higher concentrations of specific serum IgG in the mother or their respective newborns, neither secretory IgA in colostrum. The greatest transmission of high titers of Sa-specific IgG2 to the newborn found in this study, i.e., antibodies with low opsonizing activity, reiterates the higher neonatal susceptibility to this pathogen. Secretory IgA in colostrum showed better avidity index than serum IgG, which reinforces the importance of breastfeeding in the early months of life.

Acknowledgments

The authors are grateful to the mothers that kindly agreed to participate in this study.

Financial support: this work was supported by CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Project number AUX-PE-DINTER/NF 2535/2009 Grant.

References

- [1] J. Jursa-Kulesza, A. Kordek, K. Kopron, B. Wojciuk, and S. Giedrys-Kalemba, "Molecular studies of an impetigo bullosa epidemic in full-term infants," *Neonatology*, vol. 96, no.1, pp.61-68, 2009. doi: 10.1159/000204961.
- [2] F. Mir, S. S. Tikmani, S. Shakoor, et al., "Incidence and etiology of omphalitis in Pakistan: a community-based cohort study," *The Journal of Infection in Developing Countries*, vol. 5, no. 12, pp. 828-833. doi: 10.3855/jidc.1229.
- [3] C. O. Montgomery, E. Siegel, R. D. Blasier, and L. J. Suva, "Concurrent septic arthritis and osteomyelitis in children," *Journal of Pediatric Orthopaedics*, vol. 33, no. 4, pp. 464-467, 2013. doi: 10.1097/BPO.0b013e318278484f.

- [4] H. A. Ganatra and A. K. M. Zaidi, "Neonatal infections in the developing world," *Seminars in Perinatology*, vol. 34, no. 6, pp. 416-425, 2010. doi: 10.1053/j.semperi.2010.09.004.
- [5] L. Downie, R. Armiento, R. Subhi, J. Kelly, V. Clifford, and T. Duke, "Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics-systematic review and meta-analysis," *Archive of Disease in Childhood*, vol. 98, pp.146-154, 2013. doi:10.1136/archdischild-2012-302033.
- [6] M. R. P. Coombs, K. Kronforst, and O. Levy, "Neonatal host defense against staphylococcal infections," *Clinical and Developmental Immunology*, Article ID 826303, 9 pages, 2013. doi:10.1155/2013/826303.
- [7] L. M. Harrison, J. A. Morris, R. M. Lauder, and D. R. Telford, "The effect of *Staphylococcus aureus* carriage in late pregnancy on antibody levels to staphylococcal toxins in cord blood and breast milk," *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 54, no. 1, pp. 137-143, 2008. doi: 10.1111/j.1574-695X.2008.00463.x.
- [8] M. A. Weber, J. C. Hartley, N. J. Klein, R. A. Risdon, M. Malone, and N. J. Sebire, "Staphylococcal toxins in sudden unexpected death in infancy: experience from a single specialist centre," *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, vol. 7, no. 2, pp. 141-147, 2011.
- [9] E. Chatzakis, E. Scoulica, N. Papageorgiou, S. Maraki, G. Samonis, and E. Galanakis, "Infant colonization by *Staphylococcus aureus*: role of maternal carriage," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 30, no. 9, pp. 1111-1117, 2011.

- [10] N. Jimenez-Truque, S. Tedeschi, E. J. Saye, et al., "Relationship between maternal and neonatal *Staphylococcus aureus* colonization," *Pediatrics*, vol. 129, no. 5, pp. 1252-1259, 2012.
- [11] E. Leshem, A. Maayan-Metzger, G. Rahav, et al., "Transmission of *Staphylococcus aureus* from mothers to newborns," *The Pediatric Infectious Disease Journal*, vol. 31, no. 4, pp. 360-363, 2012. doi: 10.1097/INF.0b013e318244020e.
- [12] I. Jongerius, M. von Kockritz-Blickwede, M. J. Horsburgh, M. Ruyken, V. Nizet, and S. H. M. Rooijakkers, "*Staphylococcus aureus* virulence is enhanced by secreted factors that block innate immune defenses," *Journal of Innate Immunity*, vol. 4, pp. 301-311, 2012.
- [13] K. M. Rigby and F. R. DeLeo, "Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections," *Seminars in Immunopathology*, vol. 34, no. 2, pp. 237-259, 2012.
- [14] P. Brandtzaeg. "Secretory IgA: designed for anti-microbial defense," *Frontiers in Immunology*, vol. 4, Article 222, 2013. doi: 10.3389/fimmu.2013.00222.
- [15] B. Corthésy, "Role of secretory IgA in infection and maintenance of homeostasis," *Autoimmunity Reviews*, vol. 12, no. 6, pp. 661-665, 2013.
- [16] C. Quinello W Quintilio, M. Carneiro-Sampaio, and P. Palmeira, "Passive acquisition of protective antibodies reactive with *Bordetella pertussis* in newborns via placental transfer and breast-feeding," *Scandinavian Journal of Immunology*, vol. 72, pp. 66-73, 2010. doi: 10.1111/j.1365-3083.2010.02410.x.
- [17] S. B. Carbonare, P. Palmeira, M. L. Silva, M. M. Carneiro-Sampaio, "Effect of microwave radiation, pasteurization and lyophilization on the ability of human milk to inhibit *Escherichia coli* adherence to HEp-2 cells," *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, vol. 14, pp. 90-94, 1996.

- [18] C. L. Jones, R. A. Macdonald, C. S. Hosking, and D. M. Robertson, "Estimating the relative avidity of mucosal IgA for antigen," *Journal of Immunological Methods*, vol. 105, no. 1, pp. 111-117, 1987.
- [19] J. A. Englund, "The influence of maternal immunization on infant immune responses," *Journal of Comparative Pathology*, vol. 137, Suppl. 1, pp. S16-S19, 2007.
- [20] D. C. Roopenian and S. Akilesh, "FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age," *Nature Reviews Immunology*, vol. 7, no. 9, pp. 715-725, 2007.
- [21] I. Ellinger and R. Fuchs, "hFcRn-mediated transplacental immunoglobulin G transport: protection of and threat to the human fetus and newborn," *Wiener medizinische Wochenschrift*, vol. 162, no. 9-10, pp. 207-213, 2012. doi: 10.1007/s10354-012-0085-0.
- [22] A. Dryla, S. Prustomersky, D. Gelbmann, et al., "Comparison of antibody repertoires against *Staphylococcus aureus* in healthy individuals and in acutely infected patients," *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, vol. 12, pp. 387-398, 2005.
- [23] N. J. Verkaik, H. A. Boelens, C. P. de Vogel, et al., "Heterogeneity of the humoral immune response following *Staphylococcus aureus* bacteremia," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 29, pp. 509-518, 2010.
- [24] B. M. Bröker and A. van Belkum, "Immune proteomics of *Staphylococcus aureus*", *Proteomics*, vol. 11, no. 15, pp. 3221-3231, 2011. doi: 10.1002/pmic.201100010.
- [25] H. F. L. Wertheim, D. C. Melles, M. C. Vos, et al., "The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections," *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 5, no. 12, pp. 751-762, 2005.
- [26] D. S. Acton, M. J. Tempelmans Plat-Sinnige, W. van Wamel, N. de Groot, and A. van Belkum, "Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact?," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 28, no. 2, pp. 115-27, 2009. doi: 10.1007/s10096-008-0602-7.

- [27] B. M. Bröker, S. Holtfreter, and I. Bekeredjian-Ding, "Immune control of *Staphylococcus aureus* - regulation and counter-regulation of the adaptive immune response," *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 304, no. 2, pp. 204-214, 2014. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.11.008.
- [28] M. Burian, D. Grumann, S. Holtfreter, C. Wolz, C. Goerke, and B. M. Bröker, "Expression of staphylococcal superantigens during nasal colonization is not sufficient to induce a systemic neutralizing antibody response in humans," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, vol. 31, no. 3, pp. 251-256, 2012. doi: 10.1007/s10096-011-1302-2.
- [29] D. Skurnik, M. Merighi, M. Grout, et al., "Animal and human antibodies to distinct *Staphylococcus aureus* antigens mutually neutralize opsonic killing and protection in mice," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 120, no. 9, pp. 3220-3233, 2010. doi: 10.1172/JCI42748.
- [30] D. J. Jung, J. H. An, K. Kurokawa, et al., "Specific serum Ig recognizing staphylococcal wall teichoic acid induces complement-mediated opsonophagocytosis against *Staphylococcus aureus*," *The Journal of Immunology*, vol. 189, no. 10, pp. 4951-4959. doi: 10.4049/jimmunol.1201294.
- [31] N. A. Daha, N. K. Banda, A. Roos, et al., "Complement activation by (auto-) antibodies," *Molecular Immunology*, vol. 48, pp. 1656-1665, 2011.
- [32] C. I. Bindon, G. Hale, M. Brüggemann, and H. Waldmann, "Human monoclonal IgG isotypes differ in complement activating function at the level of C4 as well as C1q," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 168, pp. 127-142, 1988.
- [33] P. Palmeira, C. Quinello, A. L. Silveira-Lessa, C.A. Zago, and M. Carneiro-Sampaio, "IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies," *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 2012, Article ID 985646, 13 pages, 2012. doi:10.1155/2012/985646.

- [34] A. Kawano and Y. Emori, "Changes in maternal secretory immunoglobulin a levels in human milk during 12 weeks after parturition," *American Journal of Human Biology*, vol. 25, pp. 399-403, 2013.
- [35] N. J. Mantis, N. Rol, and B. Corthésy, "Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut," *Mucosal Immunology*, vol. 4, no. 6, pp. 603-611, 2011. doi: 10.1038/mi.2011.41.

Figures

(a)

(b)

Figure 1: Placental transfer ratios (%) of total IgG **(a)** and anti-*S. aureus* IgG **(b)** from case and control groups. Comparison of data is presented as box plots. The box represents the 25th–75th percentiles, and the median is represented by the line within the box.

(a)

(b)

Figure 2: (a) Anti-*S. aureus* IgG1 titers and **(b)** anti-*S. aureus* IgG2 titers in maternal serum and umbilical cord serum samples from case (n=25) and control group (n=44). Comparison of data is presented as box plots. The box represents the 25th–75th percentiles, and the median is represented by the line within the box.

(a)

(b)

Figure 3: Anti-*S. aureus* IgG1 and IgG2 titers in maternal serum **(a)** and umbilical cord serum samples **(b)** from case and control group. Mann-Whitney analyses were employed to compare IgG1 and IgG2 medians between maternal sera and between cord sera. The box represents the 25th–75th percentiles, and the median is represented by the line within the box.

Figure 4: Placental transfer ratios (%) of anti-*S. aureus* IgG1 and IgG2 from case and control groups. Comparison of data is presented as box and whisker plots. The box represents the 25th–75th percentiles, and the median is represented by the line within the box. The whiskers represent the 5th–95th percentiles.

Figure 5: Avidity indexes of anti-*S. aureus* IgG and IgA antibodies in maternal serum and colostrum samples from case (n=17) and control (n=18) groups. Wilcoxon analyses were employed to compare IgG and IgA medians between maternal sera and colostrums. The box represents the 25th–75th percentiles, and the median is represented by the line within the box.

Tables

Table 1: Demographic and obstetric characteristics of the parturients (n=147) according to their nasal *S. aureus* carrier status, Cuiabá-MT.

	<i>S. aureus</i> nasal carrier status		<i>p</i>
	Case Group (n=49)	Control Group (n=98)	
Maternal age in years (mean)	24.3	25.1	0.3681
Gestational age in weeks (mean)	39.1	39.1	0.8778
Primiparous (n; %)	9; 18.4%	35; 35.7%	0.0312
Weight at birth in grams (mean)	3,284.3	3,275.1	0.9836
Placental weight in grams (média)	635.1	643.8	0.8228
Number of cotyledons in each placenta (mean)	10.1	10.2	0.5964

n=number.

Table 2: Total, *S. aureus*-specific antibodies and placental transfer ratios in maternal serum and umbilical cord serum samples from case and control group.

Median [95% CI]					
Case Group (n=49)			Control Group (n=98)		
Total IgG (mg/dl)			Total IgG (mg/dl)		
Maternal Serum	Cord Serum	Cord/Maternal Ratio (%)	Maternal Serum	Cord Serum	Cord/Maternal Ratio (%)
1069.0 ^a [991.0-1,116.0]	1034.0 [1,027.0-1,138.0]	100.9 ^c [98.9-112.6]	939.0 ^{ab} [907.0-996.0]	1041.0 ^b [1,044.0-1,146.0]	114.1 ^c [112.6-125.9]
Anti- <i>S. aureus</i> IgG (UA/mL)			Anti- <i>S. aureus</i> IgG (UA/mL)		
Maternal Serum	Cord Serum	Cord/Maternal Ratio (%)	Maternal Serum	Cord Serum	Cord/Maternal Ratio (%)
317.0 ^b [366.6-678.8]	224.7 ^b [243.3-453.8]	69.5 ^c [65.5-76.3]	317.4 ^b [409.4-579.9]	264.7 ^b [308.4-429.2]	81.3 ^c [77.3-90.1]

NOTE. – CI = confidence interval; ^a $p < 0.01$; ^b $p < 0.0001$; ^c $p < 0.01$.

Table 3: Total and *S. aureus*-specific IgA antibodies in maternal colostrum samples from case (n=45) and control (n=98) groups.

Median [95% CI]			
Total IgA (g/l)		Anti- <i>S. aureus</i> IgA (UA/ml)	
Case Group ^a	Control Group ^a	Case Group	Control Group
163.3	125.7	4,019.0	5,337.0
[152.2-216.2]	[125.8-158.3]	[3,747.0-7,024.0]	[6,048.0-12,423.0]

NOTE. – CI = confidence interval.

^a $p < 0.05$.