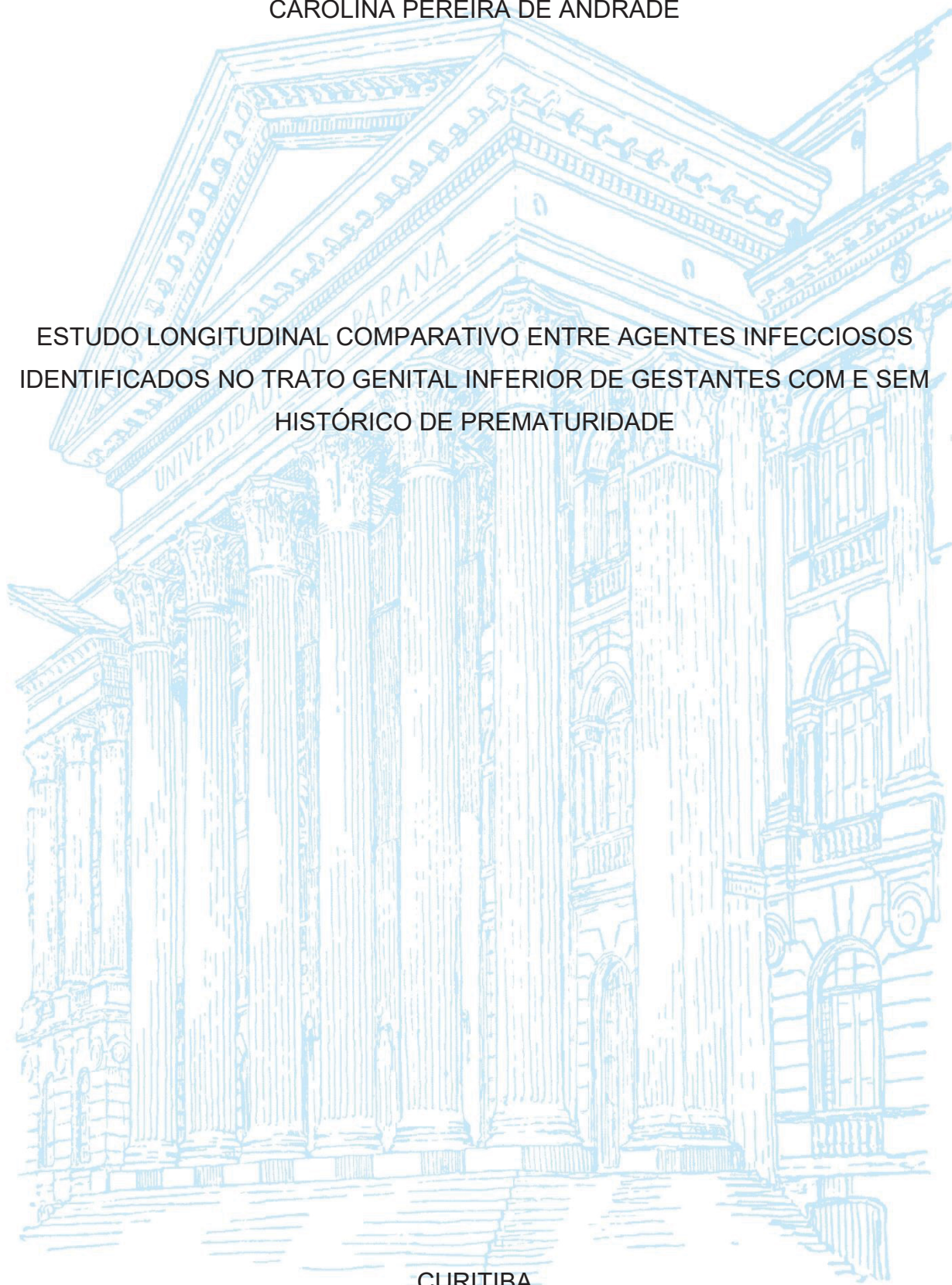


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA PEREIRA DE ANDRADE

ESTUDO LONGITUDINAL COMPARATIVO ENTRE AGENTES INFECCIOSOS
IDENTIFICADOS NO TRATO GENITAL INFERIOR DE GESTANTES COM E SEM
HISTÓRICO DE PREMATURIDADE



CURITIBA

2022

CAROLINA PEREIRA DE ANDRADE

ESTUDO LONGITUDINAL COMPARATIVO DE AGENTES INFECCIOSOS
IDENTIFICADOS NO TRATO GENITAL INFERIOR DE GESTANTES COM E SEM
HISTÓRICO DE PREMATURIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Tocoginecologia e Saúde da Mulher.

Orientador: Professor Doutor Newton Sérgio de Carvalho

Coorientadora: Professora Doutora Camila Marconi

CURITIBA

2022

A554 Andrade, Carolina Pereira de

Estudo longitudinal comparativo de agentes infecciosos identificados no trato genital inferior de gestantes com e sem histórico de prematuridade [recurso eletrônico] / Carolina Pereira de Andrade. – Curitiba, 2022.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho
Coorientadora: Profa. Dra. Camila Marconi

1. Microbiota – vagina. 2. Gestação. 3. Infecções do sistema genital. I. Carvalho, Newton Sérgio de. II. Marconi, Camila. III. Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO TOCGINECOLOGIA E
SAÚDE DA MULHER - 40001016084P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação TOCGINECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **CAROLINA PEREIRA DE ANDRADE** intitulada: **ESTUDO LONGITUDINAL COMPARATIVO DE AGENTES INFECCIOSOS IDENTIFICADOS NO TRATO GENITAL INFERIOR DE GESTANTES COM E SEM HISTÓRICO DE PREMATURIDADE**, sob orientação do Prof. Dr. NEWTON SERGIO DE CARVALHO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 04 de Novembro de 2022.

Assinatura Eletrônica

01/12/2022 15:14:50.0

NEWTON SERGIO DE CARVALHO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

23/11/2022 15:55:08.0

RAFAEL FREDERICO BRUNS

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

25/11/2022 15:19:03.0

MÁRCIA GUIMARÃES DA SILVA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE EST. PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO)

RUA GENERAL CARNEIRO, 181 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80060-900 - Tel: (41) 3525-6855 - E-mail: pgtoco@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 237852

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 237852

DEDICATÓRIA

DEDICO ESTE TRABALHO AS PESSOAS QUE SE VOLUNTARIAM A PARTICIPAR DE PESQUISAS, sem as quais não seria possível a evolução da ciência.

AGRADECIMENTOS

AGRADEÇO À MINHA família, MEU PAI QUE SEMPRE ME APOIOU e me incentivou a estudar e pesquisar, PRINCIPALMENTE AO MEU MARIDO MURILO E FILHOS PELA PACIÊNCIA E MUITAS VEZES PELA minha AUSÊNCIA, enquanto eu me dedicava no meu trabalho de pesquisa.

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Newton Sérgio de Carvalho e à coorientadora Professora Doutora Camila Marconi, que sempre estiveram ao meu lado me orientando e incentivando.

COMPARTILHE SEU CONHECIMENTO. É UMA FORMA
DE ALCANÇAR A IMORTALIDADE.

Dalai Lama

RESUMO

A prematuridade é um grande desafio para a prática obstétrica, apesar dos avanços científicos e melhor entendimento da sua fisiopatologia. Mundialmente, 15 milhões de crianças nascem prematuras/ano, correspondendo a 11% de todos os nascimentos, acarretando em aumento significativo dos gastos públicos, advindos das inúmeras complicações materno-infantis associadas a tal condição. A principal causa da prematuridade é infecciosa/inflamatória e ainda não se sabe o papel de muitos agentes etiológicos, inclusive de espécies que colonizam o ambiente vaginal como *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência de colonização por *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. no trato genital inferior em dois grupos de gestantes associadas com antecedentes ou não de prematuridade. Trata-se de um estudo longitudinal, prospectivo realizado em serviços de pré-natal de baixo e alto risco no município de Campo Largo, no estado do Paraná. Foram incluídas 26 gestantes com história de gestação pré-termo (GPT) e 24 gestantes com história de gestação de termo (GT). Todas as participantes responderam a um questionário, no qual foram avaliados dados sociodemográficos, histórico de doenças prévias, antecedentes ginecológicos e obstétricos e foram submetidas a exame ginecológico e coleta de amostras de secreção vaginal/cervical, uma amostra em cada um dos 3 trimestres da gestação. As amostras cervicais foram submetidas à extração para pesquisa dos microrganismos-alvo por *Polymerase Chain Reaction* em tempo real em módulo multiplex. Participaram do estudo 50 gestantes com média de idade de $29,4 \pm 5,9$ anos, variando de 19,4 a 40,1 anos e média de idade gestacional de $13,6 \pm 4,5$ semanas, variando de 6 a 28,1 semanas, no início do acompanhamento. A prevalência geral de positividade para os microrganismos estudados foi de 18 casos (36,0%). Na comparação das gestantes do GT e GPT não se observou diferença significativa nos aspectos sociodemográficos, hábitos de vida, história de infecção sexualmente transmissível, Papanicolau (exame preventivo de câncer de colo de útero), queixas genitais, classificação da microbiota vaginal, história gestacional, história de parto e nascimento prematuro ($p > 0,05$). Foi observada menor idade materna ($p < 0,001$) e maior número de gestações ($p = 0,01$) no GPT. Vinte e oito gestantes foram acompanhadas em todos os 3 trimestres (do 1º ao 3º trimestre), sendo 15 do GT e 13 do GPT. Os microrganismos identificados no ambiente vaginal foram o *Ureaplasma parvum* e *Mycoplasma hominis*, com frequência semelhante entre os grupos em todos os trimestres de gestação ($p > 0,05$). A prevalência de gestação pré-termo foi de um caso no GT (6,7%) e nenhum no GPT (0,0%) ($p = 1,00$). A prevalência geral de positividade para estes microrganismos, considerando todas as gestantes, foi de 3,6% no 1º trimestre, 42,8% no 2º trimestre e de 64,3% no 3º trimestre, sem diferença entre os grupos, na avaliação geral ou de cada trimestre ($p > 0,05$), mas demonstrando maior presença destes microrganismos nos dois últimos trimestres comparativamente ao primeiro ($p < 0,001$).

Palavras-chaves: microbiota vaginal; gestação; gestação pré-termo.

ABSTRACT

Prematurity is a major challenge for obstetric practice, despite scientific advances and better understanding of its pathophysiology. Worldwide, 15 million children are born prematurely/year, corresponding to 11% of all births, resulting in a significant increase in public spending, due to the numerous maternal and child complications associated with this condition. The main cause of prematurity is infectious/inflammatory and the role of many etiological agents is still unknown, including species that colonize the vaginal environment such as *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma* spp. The objective of this study was to estimate the incidence of infection by *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma* spp. in the lower genital tract in two groups of pregnant women associated with a history or not of prematurity. This is a longitudinal, prospective study carried out in low- and high-risk prenatal services in the municipality of Campo Largo, Paraná State, Brazil. We included 26 pregnant women with a history of prematurity (PTG) and 24 pregnant women with a history of term pregnancy (TG). All participants answered a questionnaire in which sociodemographic data, history of previous diseases, gynecological and obstetric history were evaluated and were submitted to gynecological examination and vaginal/cervical secretion sampling, one sample in each of the 3 trimesters of pregnancy. The cervical samples were submitted to extraction for research of the target microorganisms by real time Polymerase Chain Reaction in multiplex module. Student's t, Mann-Whitney and Pearson's chi-square tests were applied for statistical analysis, with a 5% significance level. Fifty pregnant women with a mean age of 29.4 ± 5.9 years, ranging from 19.4 to 40.1 years, and a mean gestational age of 13.6 ± 4.5 weeks, ranging from 6 to 28.1 weeks, participated in the study at the beginning of follow-up. The overall incidence of positivity for the studied microorganisms was 18 cases (36.0%). In the comparison of pregnant women from TG and PTG no significant difference was observed in sociodemographic aspects, life habits, history of sexually transmitted infection, Pap-test (preventive examination for cervical cancer), genital complaints, classification of vaginal microbiota, gestational history, delivery history and premature birth ($p > 0.05$). Lower maternal age ($p < 0,001$) and higher number of pregnancies ($p = 0,01$) were observed in PTG. Twenty-eight pregnant women were followed in all 3 trimesters (from the 1st to the 3rd trimester), 15 from the TG and 13 from the PTG. The microorganisms identified in the vaginal environment were *Ureaplasma parvum* and *Mycoplasma hominis*, with similar frequency between the groups in all trimesters of pregnancy ($p > 0.05$). The incidence of prematurity was one case in the TG (6.7%) and none in the PTG (0.0%) ($p = 1.00$). The overall incidence of positivity for these microorganisms, considering all pregnant women, was 3.6% in the 1st trimester, 42.8% in the 2nd trimester and 64.3% in the 3rd trimester, with no difference between groups, in the overall assessment or of each trimester ($p > 0.05$), but showing a higher presence of these microorganisms in the last two trimesters compared to the first ($p < 0.001$).

Keywords: vaginal microbiota; pregnancy; prematurity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DA EVOLUÇÃO DOS CASOS EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)	38
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DE MÉDIAS DE IDADE GESTACIONAL NA ADMISSÃO E <i>FOLLOW-UP</i> – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)	35
GRÁFICO 2 – PREVALÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS NA ADMISSÃO E <i>FOLLOW-UP</i> DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)	36
GRÁFICO 3 – PREVALÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS NA ADMISSÃO E <i>FOLLOW-UP</i> – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– CARATERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)	31
TABELA 2	– USO DE TABACO, ÁLCOOL E DROGAS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019).....	32
TABELA 3	– PARCEIRO E RELAÇÕES SEXUAIS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019).....	32
TABELA 4	– HISTÓRIA DE INFECÇÃO SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEL, EXAME PREVENTIVO DE CÂNCER DE COLO DE ÚTERO, QUEIXAS GENITAIS E CLASSIFICAÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019).....	33
TABELA 5	– HISTÓRIA GESTACIONAL E PARTO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019).....	33
TABELA 6	– COLONIZAÇÃO POR CANDIDA SP, <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> , <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> E <i>UREAPLASMA UREALYTICUM</i> DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)	34
TABELA 7	– CARATERÍSTICAS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019) .	35
TABELA 8	– CLASSIFICAÇÃO DE NUGENT E POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO - SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)	37

TABELA 9 - NÚMERO E TOTAL DE CASOS DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS DE ACORDO COM O TRIMESTRE DE GESTAÇÃO.....	39
TABELA 10 – DESFECHO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO - SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019).....	40
TABELA 11 – DESCRIÇÃO DOS CASOS QUANTO À POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS, GRUPO DE DESFECHO DA GESTAÇÃO ANTERIOR E DESFECHO DA GESTAÇÃO ATUAL.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

CAAE	-	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CEP	-	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
G-CSF	-	<i>Gibco Recombinant Protein</i> - Fatores Estimulantes de Colônias
GPT	-	Grupo com história de gestação pré-termo
GT	-	Grupo com história de gestação de termo
Ig	-	Imunoglobulina
IL	-	Interleucina
mCMV	-	Citomegalovírus de Murino
OR	-	<i>Odds Ratio</i>
PCR	-	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
PG	-	Prostaglandina
RH	-	<i>Rhesus Factor</i>
RN	-	Recém-nascido
RUPREME	-	Ruptura Prematura das Membranas Ovulares
SD	-	Setor de Ciências da Saúde
SUS	-	Sistema Único de Saúde
TCLE	-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TET	-	Tampão Tris-EDTA- <i>Tween</i>
TGI	-	Trato Genital Inferior
TNF- α	-	<i>Tumor Necrosis Alpha</i> (Fator de Necrose Tumoral)
TPP	-	Trabalho de Parto Prematuro
UFPR	-	Universidade Federal do Paraná
VB	-	Vaginose Bacteriana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.2 OBJETIVOS.....	17
1.2.1 Objetivo Geral	17
1.2.2 Objetivos Específicos	17
1.3 JUSTIFICATIVA.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 PREMATURIDADE	18
2.2 MICOPLASMA	20
2.3 UREAPLASMA SPP.	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 TIPO DE ESTUDO	24
3.2 HIPÓTESE DE ESTUDO	24
3.3 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO.....	24
3.4 POPULAÇÃO FONTE.....	24
3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	25
3.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	25
3.7 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRA	25
3.8 PROCEDIMENTOS DE ESTUDO.....	26
3.8.1 Tratamento das Infecções Cérvico-vaginais	27
3.8.2 Avaliação Microscópica do Esfregaço Vaginal	27
3.8.3 Extração do DNA das Amostras Ectocervicais	27
3.8.4 Detecção das Infecções Cervicais por <i>Polymerase Chain Reaction</i> em Tempo Real	28
3.9 TABULAÇÃO E GERENCIAMENTO DE DADOS	29
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
3.11 ÉTICA EM PESQUISA	30

3.12 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA.....	30
3.13 FOMENTO PARA A PESQUISA, PROFISSIONAIS E SERVIÇOS ENVOLVIDOS.....	30
4 RESULTADOS	31
4.1 ANÁLISE LONGITUDINAL DAS GESTANTES	34
5 DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS	47
APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	55
APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO PROJETO PREMATURIDADE	56
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	58
PRODUÇÃO ACADÊMICA – ARTIGO CIENTÍFICO PARA SUBMISSÃO NA REVISTA AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRIC AND GYNECOLOGY	62

1 INTRODUÇÃO

O nascimento prematuro é uma das principais causas relacionadas à morbidade e mortalidade neonatal no mundo inteiro. Espécies de *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. têm sido frequentemente isoladas no líquido amniótico e placenta nestes casos, como também há relatos de associação com infertilidade, nascimento natimorto, corioamnionite, morbidade neonatal como pneumonia congênita, displasia broncopulmonar, meningite e óbito perinatal (SPRONG; MABENGE; WRIGHT, 2020).

A prematuridade é definida como nascimento anterior à 37^a semana de gestação e, apesar dos avanços científicos que possibilitaram o melhor entendimento da sua fisiopatologia, ainda representa um grande desafio para a prática obstétrica (LIU *et al.*, 2012). Com as altas taxas de prematuridade, além de toda a repercussão médica negativa, há aumento significativo dos gastos públicos, devido às inúmeras complicações materno-infantis associadas a tal condição (GOLDENBERG *et al.*, 2008).

Depois de quase 50 anos desde a primeira evidência de associação entre a presença do *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. com complicações perinatais e neonatais, a distinção entre estes microrganismos e seus efeitos patológicos ainda não estão esclarecidos. O surgimento de investigações com bases moleculares revitalizou as pesquisas nesta área, permitindo compreender melhor sua patogenia, especialmente sua transição de colonização comensal para infecção (MURTHA; EDWARDS, 2014).

Inicialmente estudados a partir de técnicas de ensaio de imunoabsorção enzimática, foi somente com o avanço nas técnicas de amplificação de ácido desoxirribonucleico (DNA) por *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase) (PCR) que estes microrganismos foram melhor detectados e identificados (MURTHA; EDWARDS, 2014). A PCR é um exame laboratorial que atua na detecção do material genético do microrganismo.

Micoplasmas genitais são microrganismos únicos, derivados do ancestral *Clostridium*, com o menor genoma de organismos vivos e de difícil diferenciação. São subdivididos em oito gêneros e mais de 200 espécies. Os *Ureaplasma* spp. são diferenciados dos *Mycoplasma* spp. pelo metabolismo da amônia e existem 14 sorotipos de *Ureaplasma* spp. agrupados por sequenciamento de RNA ribossômico 16S em 2 biovariantes – *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*. A literatura

mais recente não faz esta distinção, o que dificulta a interpretação e a identificação da relevância clínica de cada uma destas espécies (CAPOCIA; GREUB; BAUD, 2013; MURTHA; EDWARDS, 2014).

A colonização por *Mycoplasma* spp. se limita às superfícies mucosas, graças à sua ligação com o epitélio por meio de moléculas de aderência, altamente imunogênicas. Sua capacidade de ativar o sistema complemento e de secretar amônio (*Mycoplasma* spp.) e ureia (*Ureaplasma* spp.) determinam efeito citotóxico local, exacerbando a resposta inflamatória (MURTHA; EDWARDS, 2014).

Estudos revelam que a colonização genital por *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. tem taxas semelhantes em todo o mundo, variando de 18 a 51% e 51 a 80%, respectivamente (CAPOCIA; GREUB; BAUD, 2013; MURTHA; EDWARDS, 2014).

Embora muitos estudos tenham encontrado associação entre a colonização/infecção por estes microrganismos com desfechos gestacionais desfavoráveis e complicações como corioamnionite, ruptura prematura das membranas amnióticas, nascimento prematuro, comorbidades neonatais e complicações puerperais, revisões sistemáticas com meta-análise, publicadas nos últimos 12 anos e estudos recentes, não tem apontado para a consistência destes achados.

Um estudo recente, avaliando o perfil clínico microbiológico periodontal observou que as mães de recém-nascidos (RN) prematuros apresentaram perfil microbiológico mais patogênico do que a de mães com RN a termo, principalmente com prematuridade moderada, mesmo apresentando melhor perfil clínico periodontal (OLIVEIRA, 2022).

Este estudo se justifica devido à importância da prematuridade no Brasil, às dificuldades existentes relativas à identificação das possíveis causas e ao fato de que ainda não foi estabelecida evidência científica definitiva da associação desses agentes infecciosos com partos prematuros.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a prevalência de colonização por *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. nos três trimestres de gestação em gestantes com história de gestação pré-termo e comparar com um grupo de gestantes de termo.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Identificar a taxa de nascimentos prematuros;
- b) Avaliar os dados epidemiológicos e compará-los nos dois grupos de estudo.

1.3 JUSTIFICATIVA

Apesar dos avanços científicos, a taxa de prematuridade no Brasil ainda é muito alta. Além de todas as complicações relacionadas à mãe e à criança, a prematuridade está associada a grandes gastos públicos. Os estudos realizados até o presente ainda não conseguiram evidenciar, com precisão, etiologias infecciosas do trato genital inferior associadas à ou ocasionando prematuridade. Por isso, toda pesquisa no sentido de se identificar possível relação causa-efeito da infecção/colonização deve ser realizada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PREMATURIDADE

A prematuridade é definida como nascimento anterior à 37^a semana de gestação e pode ser agrupada de acordo com a idade gestacional, em: a) RN prematuros extremos: com até 28 semanas e 6 dias de gestação; b) RN muito prematuros: com idade gestacional entre 29 e 32 semanas de gestação; c) RN prematuros moderados: com idade gestacional entre 32 e 36 semanas de gestação e; d) RN prematuros tardios: com idade gestacional entre 34 e < 37 semanas (BICK, 2012). Destes, os RN prematuros tardios são os mais prevalentes e representam até 85% de todos os partos prematuros em todo o mundo.

As altas taxas de prematuridade acarretam em aumento significativo dos gastos públicos, advindos das inúmeras complicações materno-infantis associadas a tal condição (GOLDENBERG *et al.*, 2008). As implicações maternas da prematuridade ocorrem principalmente no período perinatal, destacando-se a maior propensão ao parto cirúrgico, depressão pós-parto e aumento do tempo de permanência hospitalar (HAMILTON; MARTIN; VENTURA, 2009). Os neonatos, por sua vez, estão sujeitos tanto a complicações perinatais como desconforto respiratório, enterocolite necrosante, hemorragia intraventricular e retinopatias, com consequências adversas na infância e vida adulta, como dificuldade de aprendizagem motora e visual, doenças pulmonares crônicas e elevado índice de infertilidade (AVCHEN; SCOTT; MASON, 2001; SWAMY; OSTBYE; SKJAERVEN, 2008), impossibilitando determinar, de maneira precisa, os reais impactos nos gastos em saúde pública ocasionados pela prematuridade.

Mundialmente, 15 milhões de crianças nascem prematuramente a cada ano, sendo responsáveis por 11% de todos os nascimentos (GOLDENBERG; ANDREWS; HAUTH, 2002), variando de 5% na Europa até 18% na África (WHO, 2012). Mais de 60% dos prematuros nascem no Sul da Ásia e na África subsariana (BLENCOWE *et al.*, 2012). Nos Estados Unidos, aproximadamente 550.000 prematuros nascem por ano. Nesse país, em 2014, 9,5% dos partos foram prematuros (MURPHY *et al.*, 2017). Na América Latina, a taxa de nascimentos prematuros, estimada em 2010, foi de 8,4%. O Brasil ocupa o 10^o lugar na classificação mundial, com 9,2% de taxa de prematuridade (BLENCOWE *et al.*, 2012). Desses partos prematuros, 84% são de RN

prematturos moderados, 10% muito prematturos e 5% extremamente prematturos (WHO, 2012).

A maioria dos casos de prematuridade, cerca de 70%, ocorre de forma espontânea e é resultante de trabalho de parto prematturo e/ou da ruptura prematura das membranas ovulares (RUPREME) (MUGLIA; KATZ, 2010). Sem dúvida, a principal causa de prematuridade espontânea é infecciosa e muitos agentes etiológicos podem estar envolvidos nessa relação (ROMERO; DEY; FISHER, 2014). De forma geral, admite-se que a rota da infecção da cavidade amniótica é ascendente, das bactérias presentes no trato genital inferior (TGI) que atingem e invadem a cavidade amniótica (ROMERO; DEY; FISHER, 2014). Há evidências de que a infecção intrauterina desencadeie o trabalho de parto prematturo por meio da ativação da cascata inflamatória. Os receptores do hospedeiro reconhecem o patógeno e ativam diversas vias de sinalização intracelulares, há aumento sequencial de citocinas inflamatórias, como Interleucina-1-Beta (IL-1 β), TNF- α (α -*Tumor Necrosis Factor* ou Fator de Necrose Tumoral- α), Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-8 (IL-8), seguidas pelo recrutamento de leucócitos, aumento de prostaglandinas, como prostaglandina E2 (PGE2) e prostaglandina F2- α (PGF2- α), e metaloproteinases da matriz. Esses mediadores contribuem para as contrações uterinas, dilatação, apagamento cervical e RUPREME (PELTIER, 2003).

Muitas espécies de microrganismos já foram detectadas na cavidade amniótica e associadas ao parto prematturo espontâneo e dentre elas são observados agentes reconhecidamente patogênicos como: *Chlamydia trachomatis* (GRAVETT *et al.*, 1986), *Trichomonas vaginalis* (COTCH *et al.*, 1997), *Neisseria gonorrhoeae* (ELLIOTT *et al.*, 1990) e *Streptococcus agalactiae* (REGAN; CHAO; JAMES, 1981), até espécies que colonizam o ambiente vaginal como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *U. urealyticum* e *Mycoplasma hominis*, que são associadas à Vaginose Bacteriana (VB) (HILLIER, 1995; MARCONI *et al.*, 2011).

A VB é uma síndrome que cursa com aumento do pH vaginal e leucorreia bolhosa com odor fétido, referido como sendo "de peixe podre", lembrando que metade das mulheres que possui essa infecção é assintomática. Microbiologicamente, a VB é caracterizada por mudança da microbiota vaginal, de dominância de *Lactobacilos* spp. para mista, que inclui *Gardenerella vaginalis*, *Bacterioides* spp., *Mobiluncus* spp. e *M. hominis* (LINHARES; BAGNOLI; HALBE, 1994).

2.2 MICOPLASMA

Em relação ao micoplasma, a primeira vez que foi reportada e associada a patogenicidade foi em 1937. Dienes e Edsal (1937)¹ (*apud* WAITES; KATZ; SCHELONKA, 2005) isolaram o microrganismo, chamado de *M. hominis*, em um abscesso da glândula de *Bartholin*.

O termo micoplasma foi primariamente utilizado em 1950 para descrever organismos que causavam pleuropneumonia. Com o passar dos anos, outras espécies de micoplasmas foram descritas, e em 1954, Shepard descobriu uma variação T de micoplasmas, posteriormente chamada de *Ureaplasma*, cultivadas de uretras de homens com uretrite não gonocócica (SHEPARD, 1954). *Ureaplasmas* podem ser subclassificados em diferentes sorotipos do número 1 ao 14 (ROBERTSON; STEMKE, 1982), por meio de dados obtidos por sequenciamento direcionado ou sequenciamento de RNA ribossômico 16S. Os sorotipos são divididos em biovariantes ou grupos. Biovariante 1, também chamado de parvo, contém sorotipos 1, 3, 6 e 14; Biovariante 2, também chamado T960, contém os sorotipos 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13. Recentemente os dois tipos de biovariante foram designados como 2 espécies: biovariante 1: *U. parvum* e biovariante 2: *U. urealyticum* (ROBERTSON *et al.*, 2002). O *U. parvum* é a espécie mais comum, podendo ocorrer colonização pelas duas espécies simultaneamente na mesma pessoa (WAITES; KATZ; SCHELONKA, 2005).

O *U. urealyticum* e *M. hominis* são frequentemente identificados simultaneamente na microbiota vaginal das mulheres (BAYRAKTAR *et al.*, 2010). O *Mycoplasma genitalium* é mais prevalente em mulheres jovens e parece não ter impacto negativo no resultado da gestação (BICK, 2012; BLENCOWE *et al.*, 2012), estando mais associado à doença inflamatória pélvica (MCGOWIN; ANDERSON-SMITS, 2011) e cervicite em mulheres não grávidas. Nos homens estão relacionadas a uretrite não gonocócica (LARSEN; HWANG, 2010).

¹ Dienes, L., and G. Edsall. 1937. Observations on the L-organism of Klieneberger. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 36:740–744

2.3 UREAPLASMA SPP.

O *Ureaplasma* spp. é a bactéria mais comumente encontrada nas infecções urogenitais, incluindo uretrite não gonocócica nos homens e complicações gestacionais nas mulheres (VOLGMANN; OHLINGER; PANZIG, 2005). O *U. parvum* pode ser detectado em 67% das mulheres sexualmente ativas, 40% nas não ativas e 25% nas pós-menopausadas (VISCARDI, 2010). Em mulheres saudáveis e não grávidas o *U. parvum* foi identificado em 57% dos casos, mais prevalente do que qualquer outro micoplasma genital (LARSEN; HWANG, 2010). A prevalência desse microrganismo tem sido associada à baixa condição socioeconômica, etnia, alterações hormonais (gravidez e menopausa) e número de parceiros sexuais (WAITES; KATZ; SCHELONKA, 2005). Apesar da possibilidade do *Ureaplasma* spp. ser detectado nos banheiros por até duas horas, a infecção por meio de superfícies contaminadas é incomum (POTASMAN; OREN; SRUGO, 1999). A transmissão acontece por contato sexual e materno-fetal.

Apesar de ser considerada uma bactéria comensal e de baixa virulência do trato genital feminino, a colonização pelo *Ureaplasma* spp. pode estar relacionada a infertilidade (KASPRZYKOWSKA *et al.*, 2014), perda precoce da gestação (DONDEERS *et al.*, 2000), parto prematuro (VOLGMANN; OHLINGER; PANZIG, 2005) e nascimento natimorto (GIBBS, 2002). A relação com estes resultados é controversa, pois é difícil provar a relação causa-efeito pelos seguintes motivos: 1) acurácia em diferenciar a presença da bactéria como comensal ou patógeno; 2) natureza polimicrobiana da microbiota vaginal; 3) dificuldade em diferenciar *U. parvum* de outros microrganismos; 4) outros fatores envolvidos na fisiopatologia desta complexa desordem (DIGIULIO *et al.*, 2008).

Payne *et al.* (2016) sugeriram que a transformação de um microrganismo comensal em patógeno pode estar relacionada à interação com outros microrganismos e moduladores inflamatórios, tempo e duração da colonização, diferenças na virulência entre espécies e erradicação ou exacerbação da resposta imune materna.

Estudos demonstram que 25 a 40% de todos os partos prematuros estão associados à infecção e os patógenos mais comuns são as espécies humanas de *Ureaplasma* spp. (SWEENEY *et al.*, 2016a; KIKHNEY *et al.*, 2017). A colonização do córion-âmnio com *Ureaplasma* spp. aumenta em três vezes o risco de endometrite

pós-cesárea e oito vezes o risco de trabalho de parto espontâneo (ANDREWS *et al.*, 1995).

Na avaliação de microrganismos das placentas, Seewney *et al.* (2016) observaram que o mais prevalente foi o *Ureaplasma* spp., com o *U. parvum* representando 59% de todos os microrganismos encontrados. Também observaram que a corioamnionite ocorreu independentemente da idade gestacional e que a maioria das infecções (93%) foi causada por somente uma espécie microbiana. A intensidade da resposta inflamatória intra-amniótica ao *M. genitalium* é inversamente proporcional à idade gestacional (GOLDENBERG *et al.*, 2008). O *Ureaplasma* spp. foi o organismo mais comumente isolado do líquido amniótico de mulheres que tiveram parto prematuro com bolsa íntegra (YOON; CHANG; ROMERO, 1998), parto prematuro com RUPREME (ROMERO *et al.*, 1993), colo curto associado à invasão microbiana da cavidade amniótica (HASSAN *et al.*, 2006) e à infecção placentária (ROMERO *et al.*, 1993).

Horowitz *et al.* (1995) evidenciaram que mulheres que possuem cultura positiva para *Ureaplasma* spp., e que possuem níveis elevados de anticorpos contra *Ureaplasma* spp., estão mais suscetíveis a desenvolver complicações durante a gestação que mulheres com cultura negativa e ausência de anticorpos.

O *Ureaplasma* spp. já foi detectado no sangue materno e no cordão umbilical na hora do parto (KELLY; GARLAND; GILBERT, 1987). Infecção intraútero por *Ureaplasma* spp. pode resultar em corioamnionite, disseminação para órgãos fetais e pneumonia congênita (CASSELL *et al.*, 1983). O diagnóstico de corioamnionite é baseado em sintomas clínicos associado à análise histológica e microbiológica da placenta após o parto. O diagnóstico padrão ouro da corioamnionite é a avaliação histológica da placenta (SWEENEY *et al.*, 2017). A frequência da corioamnionite histológica foi maior em mulheres que desencadearam parto espontâneo do que as que tiveram indução de parto ou cesárea (SEONG *et al.*, 2008). Além disso, o risco de corioamnionite aumenta em trabalhos de parto prolongados (LAUGHON *et al.*, 2014) e RUPREME (RICKERT *et al.*, 1998). Embora estudos microbiológicos tenham demonstrado que a infecção intraútero possa ser responsável por 25 a 40% dos partos prematuros (GOLDENBERG; HAUTH; ANDREWS, 2000), deve-se considerar que haja subnotificação, devido à dificuldade de detectar esses microrganismos por meio dos métodos convencionais. A corioamnionite histológica complica 40 a 70% dos partos prematuros (TITA; ANDREWS, 2010).

Em um estudo coorte, o *Ureaplasma* spp. foi detectado em 35% dos RN prematuros com idade gestacional menor que 33 semanas, mediante coleta de aspirado orotraqueal ou nasofaringe na primeira semana de vida (VISCARDI *et al.*, 2008).

Chun *et al.* (2019) demonstraram que a colonização materna por *Ureaplasma* spp. está relacionada ao desenvolvimento de displasia broncopulmonar no RN, e que concentração elevada de colônias na vagina está relacionada ao aumento desta doença em prematuros com menos de 32 semanas de gestação.

Este estudo teve por finalidade investigar de forma longitudinal, ou seja, nos três trimestres da gestação, a presença de agentes infecciosos no trato genital inferior que apresentem possibilidade de estarem mais comumente relacionados com a prematuridade e com antecedentes de prematuridade, e comparar com aquelas sem os mesmos antecedentes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, analítico, do tipo coorte prospectivo.

3.2 HIPÓTESE DE ESTUDO

Considerando a natureza relacional dos estudos coorte os microrganismos *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. foram posicionados como variável independente e a história de gestação pré-termo como variável dependente, elaborando assim as seguintes hipóteses de estudo:

H0: A colonização do ambiente cervical por *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. não está associada a história de gestação pré-termo;

H1: A colonização do ambiente genital por *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. está associada a história de gestação pré-termo.

3.3 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher da Universidade Federal do Paraná (UFPR). A coleta de dados se deu no Serviço de Pré-natal de Baixo Risco nas Unidades Básicas de Saúde e no Serviço de Pré-natal de Alto Risco na Unidade da Mulher e da Criança Helvídia Pianaro, no município de Campo Largo, no estado do Paraná.

3.4 POPULAÇÃO FONTE

No serviço de gestação de alto risco e ginecologia especializada, Unidade da Mulher e da Criança, Helvídia Pianaro, na cidade de Campo Largo, são atendidas cerca de 800 gestantes por ano moradoras da cidade.

3.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram considerados como critérios de inclusão gestantes com:

- idade entre 18 e 40 anos e gestação única;
- idade gestacional de até 20 semanas na ocasião da primeira consulta de pré-natal;
- história de gestação prévia a termo, pré-termo e aborto;
- consentimento para participação na pesquisa mediante ciência e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1).
- critérios para coleta de material genital tais como: ausência de terapia com antimicrobianos nos últimos 30 dias; 72 horas de abstinência sexual; 72 horas de qualquer procedimento vaginal, como toque vaginal e ultrassom transvaginal.

3.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram considerados como critérios de exclusão:

- Presença de comorbidades como pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, incompetência istmo-cervical, descolamento prematuro de placenta, placenta prévia, incompatibilidade de RH (*Rhesus Factor*), trauma mecânico, oligo ou polidrâmnio, soropositividade para *Human Immunodeficiency Virus*, gestação múltipla e cirurgia prévia em colo de útero;
- Pacientes positivas para *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* e *Neisseria gonorrhoeae*.

3.7 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRA

Foram incluídas 26 gestantes com história de gestação pré-termo (GPT) e 24 gestantes com história de gestação e termo (GT), tendo a amostra sido selecionada de forma não probabilística e sistemática, de acordo com a data do primeiro

atendimento nos serviços de saúde e disponibilidade do pesquisador para dias específicos de atendimento.

3.8 PROCEDIMENTOS DE ESTUDO

As mulheres grávidas que compareceram para as consultas agendadas, e que se enquadraram nos critérios de inclusão e exclusão, foram convidadas a participar do estudo, com explicações detalhadas dos seus propósitos. Ao convidar tais gestantes para participar, foi tomado o cuidado de formar uma amostra de gestantes possuidoras de antecedentes de gestação pré-termo denominado de GPT, ao mesmo tempo de ter outro grupo de gestantes destituídas destes antecedentes, que foi utilizado como controle (GT).

A cada uma das participantes de pesquisa foi entregue o TCLE, para leitura e entendimento da pesquisa, com auxílio da pesquisadora, para esclarecimento de possíveis dúvidas. Com o consentimento de participação, as mulheres assinaram o TCLE, seguido pela pesquisadora, inclusive rubricando todas as páginas. Uma via ficou no prontuário da participante e outra foi entregue a ela.

As pacientes que aceitaram participar do estudo responderam a um questionário desenvolvido para esta finalidade, a fim de obter dados demográficos, comportamentais e antecedentes ginecológicos e obstétricos (Apêndice 2).

As participantes foram submetidas à avaliação obstétrica rotineira e, ao mesmo tempo, ao exame ginecológico para obtenção das amostras do estudo em três visitas de pré-natal, sendo uma em cada trimestre da gestação.

As amostras foram obtidas durante o exame especular. Neste momento foi aferido o pH vaginal, sendo considerado normal valores entre 3,8 a 4,5, e com *swabs* (zaragatoas de algodão) estéreis foram coletadas amostras de terço médio da parede vaginal para confecção de esfregaços vaginais em lâminas para classificação da microbiota vaginal. O material endocervical foi coletado, também com *swabs*, para detecção de infecções por *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e presença dos microrganismos de interesse *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum*.

3.8.1 Tratamento das Infecções Cérvico-vaginais

As pacientes que foram diagnosticadas com alguma infecção indicativa de tratamento foram conduzidas conforme o protocolo de pré-natal do Sistema Único de Saúde (SUS) e foram submetidas ao controle de tratamento após 30 a 45 dias do final do tratamento.

3.8.2 Avaliação Microscópica do Esfregaço Vaginal

As lâminas do conteúdo vaginal foram coradas pelo método de Gram e a microbiota classificada segundo critérios de Nugent (NUGENT; KROHN; HILLIER, 1991). Os critérios descritos por Nugent, Krohn e Hillier utilizam um sistema de escore morfológico padrão que varia entre 0 a 10, com pontuação maior ou igual 7 considerada como diagnóstico de VB.

3.8.3 Extração do DNA das Amostras Ectocervicais

As amostras cervicais foram mantidas a -20°C até o momento do processamento para extração de DNA. Para tanto, foram deixadas em temperatura ambiente até descongelarem e, então, foram homogeneizadas vigorosamente em *vortex* por 1 minuto. Em seguida, uma alíquota de 200 μL foi transferida para o microtubo de 1,5 ml para posterior extração do DNA utilizando o *kit* Biopur *Kit Mini spin plus* (Mobius Life Science, Comércio de Produto para Laboratórios Ltda., Paraná).

Para o processo de extração, as amostras foram submetidas ao processo de digestão com proteinase K (25 μL) e tampão de lise (200 μL), fornecidos pelo *kit*, por 15 minutos a 56°C . Em seguida, as amostras digeridas foram transferidas para os tubos contendo uma coluna com membrana retentora de DNA. Após centrifugação a 11000/g/1 minuto, o material filtrado no tubo de coleta foi descartado e foi adicionado 500 μL de tampão de lavagem à coluna. Essa etapa se repetiu utilizando os mesmos parâmetros. Após nova centrifugação, o material filtrado no tubo de coleta foi descartado e o material retido na coluna centrifugado novamente. Então, os tubos coletores foram substituídos por microtubos de 1,5 ml e foi adicionado 50 μL do tampão de eluição aquecido a 56°C . Finalmente, após incubação em temperatura ambiente por 1 minuto, o material foi submetido à nova centrifugação a 11000/g/1 minuto, a coluna descartada e o DNA eluído em tampão fornecido pelo *kit* armazenado a 20°C até o momento das análises.

3.8.4 Detecção das Infecções Cervicais por *Polymerase Chain Reaction* em Tempo Real

Para a detecção dos microrganismos de interesse foi utilizado o *Kit* comercial *Xgen multi up* (*Mobius Life Science*, Comércio de Produto para Laboratórios Ltda., Paraná), que permite a detecção simultânea dos seis microrganismos de interesse pela PCR em tempo real, sendo eles: *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* e *U. parvum*.

Para cada amostra, foram preparadas duas reações distintas, visto que a detecção do DNA bacteriano de três diferentes patógenos ocorre num mesmo tubo. Cada uma das reações foi realizada com um volume total de 25µL, contendo: 12,5µL de tampão, 1,5µL da solução de *primers*, 1µL da enzima (todos fornecidos pelo *kit*) e 10µL da amostra.

As reações foram incubadas em instrumento *7500 Real Time PCR System* (*Applied Biosystems*®) nas seguintes etapas de ciclagem: etapa *Hold* a 42°C por 15 minutos, seguida de nova etapa *Hold* a 94°C por 3 minutos. A ciclagem consistiu em 40 repetições de dois passos: 94°C por 8 segundos, seguida de 60°C por 34 segundos. Um total de 4 sondas fluorescentes distintas são utilizadas neste método: FAM (para detecção de *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis*), VIC (para detecção de *M. genitalium* e *U. urealyticum*), ROX (para detecção de *Chlamydia trachomatis* e *U. parvum*) e CY5 (para detecção de *M. hominis* e controle interno). Na presença de amplificação, os sinais fluorescentes captados foram analisados em *software 7500 Real Time PCR* (*Applied Biosystems*®) e foram relatados como o valor limiar de ciclo. Ao final da amplificação, para validação do ensaio, todas as amostras devem ser positivas para o controle interno que consiste em citomegalovírus de murino (mCMV), inoculado (1µL) em todas as amostras anteriormente ao processo de extração.

As análises microscópicas para classificação da microbiota vaginal foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Médica do Setor de Ciências Biológicas da UFPR utilizando os critérios estabelecidos por Nugent, Krohn e Hillier (1991) em esfregaços vaginais corados pela técnica de Gram.

Segundo tais critérios, os morfotipos bacterianos presentes são semi-quantificados e, mediante a predominância de *Lactobacillus*, a microbiota é classificada como normal (escores 0 a 3). Na presença de morfotipos compatíveis com

Lactobacillus concomitante a uma microbiota acessória expressiva, é classificada como intermediária (escores de 4 a 6). Os esfregaços com depleção de *Lactobacillus* e substituição por uma microbiota granular são compatíveis com a presença de VB (escores 7 a 10). Durante a observação microscópica dos esfregaços vaginais, também foi realizada a pesquisa de morfotipos compatíveis com *pseudohifas* ou hifas de *Candida* spp.

3.9 TABULAÇÃO E GERENCIAMENTO DE DADOS

Todos os dados foram coletados e registrados exclusivamente pela pesquisadora e registrada no instrumento de coleta de dados, em planilhas do *Microsoft Excel* (*Microsoft Corporation, Redmond, WA*®). Posteriormente foram conferidos e exportados para o *software* de estatística *Statistica 12.0* (Stasoft®).

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As medidas de tendência central e de dispersão estão expressas em médias e desvio padrão (média \pm DP) para as variáveis contínuas de distribuição simétrica e em medianas e intervalo interquartilico para as de distribuição assimétrica. As variáveis categóricas estão expressas em frequência absoluta e relativa.

Para estimativa de diferença entre variáveis contínuas de distribuição simétrica foi aplicado o teste t de Student, enquanto distribuição assimétrica, o teste de Mann-Whitney.

Para estimativa de diferença entre as variáveis categóricas foi aplicado o teste exato de Fisher e teste qui-quadrado de Pearson, na dependência da natureza das tabelas de contingência.

Análise da variância (Anova) para medidas repetidas foi aplicada para avaliar a distribuição das médias de idade gestacional ao longo dos três trimestres.

O tamanho da amostra foi estimado considerando o nível de significância de 5%, erro do tipo II de 10%, magnitude de efeito de 30%, com estimativa de 50 casos para conferir poder de teste de 90%.

3.11 ÉTICA EM PESQUISA

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Setor de Ciências da Saúde (SD) da UFPR, sob Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) número 1.671.475/2.545.367 (Anexo 1). O TCLE encontra-se no Apêndice 1.

3.12 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada considerando as medidas de proteção, minimização de riscos, confidencialidade, responsabilidade do pesquisador e da instituição, de acordo com o compromisso firmado com o CEP/SD/UFPR na ocasião de submissão do projeto.

3.13 FOMENTO PARA A PESQUISA, PROFISSIONAIS E SERVIÇOS ENVOLVIDOS

A pesquisa não recebeu fomentos de agências financiadoras e contou com a participação do Serviço de Pré-natal de Baixo Risco nas Unidades Básicas de Saúde e no Serviço de Pré-natal de Alto Risco na Unidade da Mulher e da Criança Helvídia Pianaro, no município de Campo Largo, no estado do Paraná. Os *kits* utilizados para realização dos exames de PCR foram doados pelo laboratório *Mobius Life Science* Comércio de Produto para Laboratórios Ltda® – Pinhais, estado do Paraná, e outra parte comprada pela Associação dos Amigos do Hospital de Clínicas® de Curitiba.

4 RESULTADOS

Constituíram a amostra do estudo 50 gestantes com média de idade de 29,4 \pm 5,9 anos, variando de 19,4 a 40,1 anos e média de idade gestacional de 13,6 \pm 4,5 semanas, variando de 6 a 28,1 semanas, no início do acompanhamento.

De acordo com a história de gestação pré-termo anteriores as gestantes foram classificadas em:

- Grupo com história de gestação de termo (GT); n = 24 (48,0%);
- Grupo com história de gestação pré-termo (GPT): n = 26 (52,0%).

Menor idade materna ($p < 0,001$) predominou no GPT, enquanto que as demais características populacionais não apresentaram diferenças estatisticamente significantes (Tabela 1).

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)

CARACTERÍSTICAS	GT (n = 24)	GPT (n = 26)	p
Idade (anos)	31,7 \pm 5,3	27,4 \pm 5,7	< 0,001¹
Etnia			
Caucasiano	13 (56,5%)	19 (73,1%)	0,24 ²
Afroamericano	10 (43,5%)	7 (26,9%)	
Exerce atividade profissional	14 (58,3%)	12 (46,1%)	0,41 ²
Outra contribuição renda familiar	22 (91,7%)	21 (81,0%)	0,44 ²
Renda por pessoa	766,67 (500-1333)	833,3 (625-1500)	0,79 ³

FONTE: O autor (2022)

NOTA: ¹Tese t de Student ²Teste exato de Fisher ³Teste de Mann-Whitney GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

Em relação ao uso de tabaco, álcool e drogas não se observou diferença entre os grupos ($p > 0,05$) (Tabela 2).

TABELA 2 – USO DE TABACO, ÁLCOOL E DROGAS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

TABACO/ÁLCOOL/DROGAS	GT (n = 24)	GPT (n = 26)	p
Tabagismo	2 (8,3%)	4 (19,2%)	0,58
Alcoolismo	2 (8,3%)	2 (7,7%)	1,00
Drogadição	0 (0,0%)	2 (8,0%)	0,48

FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

Não se observou, igualmente, diferença entre os grupos também em relação ao tipo e número de parceiros e relações sexuais por semana (Tabela 3).

TABELA 3 – PARCEIRO E RELAÇÕES SEXUAIS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

PARCEIRO/RELAÇÕES SEXUAIS	GT (n = 24)	GPT (n = 26)	p
Reside com o parceiro	22 (91,7%)	24 (92,3%)	1,00 ¹
Novo parceiro	3 (12,5%)	4 (15,4%)	1,00 ¹
Número de parceiros			
1	23 (95,8%)	1 (4,2%)	1,00 ¹
2	18 (100,0%)	0 (0,0%)	
Nº relações sexuais/semana			
1	8 (33,3%)	7 (26,9%)	
2	8 (33,3%)	6 (23,1%)	
3	5 (20,8%)	10 (38,5%)	
4	1 (4,2%)	3 (11,5%)	0,42 ²
5	1 (4,2%)	0 (0,0%)	
6	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
7	1 (4,2%)	0 (0,0%)	

FONTE: O autor (2022)

NOTA: ¹Teste exato de Fisher ²Teste qui-quadrado de Pearson GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

A história de infecção sexualmente transmissível, queixas genitais, pH vaginal e classificação da microbiota genital também foi semelhante entre os grupos ($p > 0,05$) (Tabela 4).

No que se refere a história gestacional, no GPT observou-se menor idade gestacional ($p = 0,02$), menor número de gestações ($p = 0,03$) e maior número de abortos ($p < 0,001$), entretanto, aborto foi um dos critérios para o GPT (Tabela 5).

TABELA 4 – HISTÓRIA DE INFECÇÃO SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEL, EXAME PREVENTIVO DE CÂNCER DE COLO DE ÚTERO, QUEIXAS GENITAIS E CLASSIFICAÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

VARIÁVEIS	GT (n = 24)	GPT (n = 26)	p
História de infecção sexualmente transmissível	2 (8,3%)	1 (3,8%)	0,60 ¹
História de alteração de conteúdo vaginal	12 (50,0%)	14 (56,0%)	0,91 ¹
Exame preventivo de câncer de colo de útero ^a	20 (100,0%)	18 (90,0%)	0,48 ¹
Queixa de corrimento	5 (20,8%)	7 (26,9%)	0,70 ¹
Queixa de mau odor genital	3 (12,5%)	5 (19,2%)	0,43 ¹
Queixa de prurido genital	0 (0,0%)	1 (3,8%)	1,00 ¹
pH vaginal	4,24 ± 0,30	4,15 ± 0,25	0,27 ²
Microscopia <i>Candida</i> spp.	2 (8,3%)	2 (7,7%)	1,00 ²
Classificação de Nugent			
0-3	21 (87,5%)	20 (76,9%)	
4-6	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,48 ³
7-10	2 (8,3%)	5 (19,2%)	

FONTE: O autor (2022)

NOTA: ¹Teste exato de Fisher ²Teste t de Student ³Teste qui-quadrado de Pearson ^aGT n = 20, GPT n = 14 GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

TABELA 5 – HISTÓRIA GESTACIONAL E PARTO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

HISTÓRIA GESTACIONAL E PARTO	GT (n = 24)	GPT (n = 26)	p
Idade gestacional	14,9 ± 5,0	12,2 ± 3,5	0,02¹
Ultrassonografia	14 (63,6%)	19 (90,5%)	
DUM	8 (36,4%)	2 (9,5%)	0,06 ²
Número de gestações			
2	18 (75,0%)	8 (30,8%)	
3	6 (25,0%)	10 (38,5%)	0,01³
> 4	0 (0,0%)	8 (30,8%)	
Número de partos			
0	0 (0,0%)	1 (3,8%)	
1	18 (75,0%)	14 (53,8%)	
2	6 (25,0%)	6 (23,1%)	0,16 ³
> 3	0 (0,0%)	5 (19,2%)	
Número de abortos			
0	24 (100,0%)	16 (61,5%)	
1	0 (0,0%)	9 (34,6%)	< 0,001³
2	0 (0,0%)	1 (3,8%)	
Parto			
Normal	12 (57,1%)	14 (42,9%)	1,00 ²
Cesárea	9 (42,9%)	11 (44,0%)	
Peso do concepto	3188,5 ± 477,3	3088,0 ± 420,0	0,60 ¹

FONTE: O autor (2022)

NOTA: ¹Teste t de Student ²Teste exato de Fisher ³Teste qui-quadrado de Pearson DUM: Data da última menstruação GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

A frequência de colonização por *Candida* sp, *Chlamydia Trachomatis*, *M. hominis* e *U. parvum* foi semelhante entre os grupos ($p > 0,05$) (Tabela 6).

TABELA 6 – COLONIZAÇÃO POR *CANDIDA* SP, *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *MYCOPLASMA GENITALIUM* E *UREAPLASMA UREALYTICUM* DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

MICROORGANISMOS	GPT (n = 24)	GT (n = 26)	p
PCR para infecção cervical	4 (16,7%)	5 (19,2%)	1,00
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2 (8,3%)	2 (7,7%)	1,00
<i>Mycoplasma hominis</i>	2 (8,3%)	0 (0,0%)	0,22
<i>Ureaplasma parvum</i>	1 (4,2%)	4 (15,4%)	0,35
Cultura <i>Candida</i> spp. ^a	3	5	0,44

FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher ^aGPT: n = 4, GT: n = 5 PCR = *Polymerase Chain Reaction*
GT: Grupo com história de gestação de termo GPT: Grupo com história de gestação pré-termo

A prevalência geral de positividade para os microrganismos de interesse estudados foi de 18 casos, ou seja, de 36,0%.

4.1 ANÁLISE LONGITUDINAL DAS GESTANTES

As pacientes positivas para *Chlamydia trachomatis* foram excluídas desta análise no primeiro trimestre, pois foram tratadas e a antibioticoterapia se constituiu em critério de exclusão.

Das 50 gestantes admitidas no estudo, 28 foram acompanhadas durante os três trimestres da gestação por meio de pesquisa de *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. parvum* e *U. urealyticum*, e da mesma forma classificadas de acordo com a história de gestação pré-termo ou de gestação de termo:

- Grupo com história de gestação de termo: GT (n = 15);
- Grupo com história de gestação pré-termo: GPT (n = 13).

Na Tabela 7 estão apresentadas as características destas gestantes. As gestantes com história de gestação pré-termo apresentaram menor idade materna ($p < 0,001$) e idade gestacional semelhante na admissão no estudo ($p = 0,37$)

O Gráfico 1 ilustra a idade gestacional na admissão no estudo e nos momentos de avaliação no 2º e 3º trimestres, sem diferença entre os grupos ($p = 0,90$).

TABELA 7 – CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

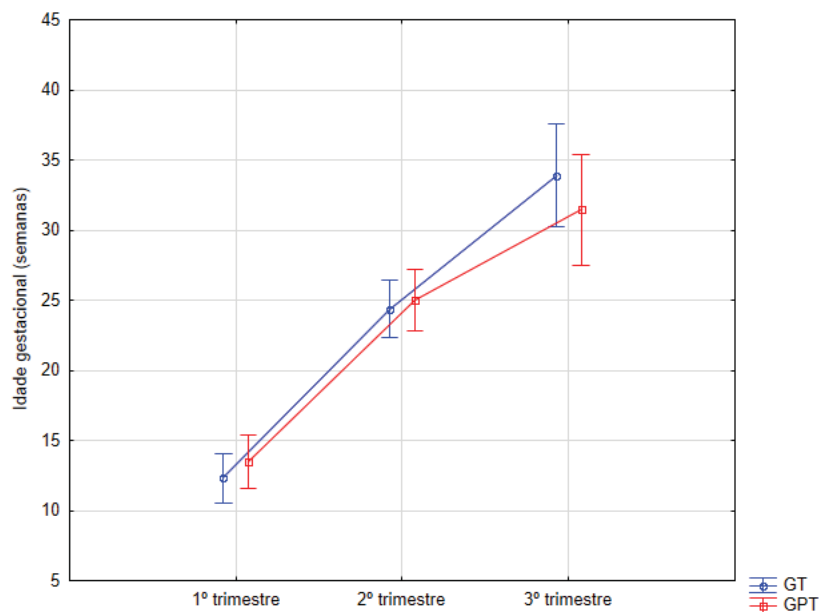
CARACTERÍSTICAS	GT (n = 15)	GPT (n = 13)	p
Idade materna (anos)	32,7 ± 4,3	27,1 ± 5,7	< 0,001 ¹
Idade gestacional ^a	12,3 ± 3,4	13,5 ± 3,3	0,37 ¹
Ultrassonografia	10 (71,4%)	10 (83,3%)	0,65 ²
DUM	4 (28,6%)	2 (16,7%)	
Etnia ^b			
Caucasiano	9 (64,3%)	9 (69,2%)	1,00 ²
Afroamericano	5 (35,7%)	4 (30,8%)	
Exerce atividade profissional	9 (60,0%)	5 (38,5%)	0,44 ²
Outra contribuição renda familiar	14 (93,3%)	11 (84,6%)	0,58 ²
Renda por pessoa	1333,3 (750-1666)	633,3 (500-1000)	0,03 ³

FONTE: O autor (2022)

NOTA: ¹Tese t de Student ²Teste exato de Fisher ³Teste de Mann-Whitney

^aGT: n = 14 GPT: n = 12 ^bGT: n = 14 GPT: n = 13 *informação disponível em 11 casos no GT GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo DUM = Data da última menstruação

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DE MÉDIAS DE IDADE GESTACIONAL NA ADMISSÃO E FOLLOW-UP – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)



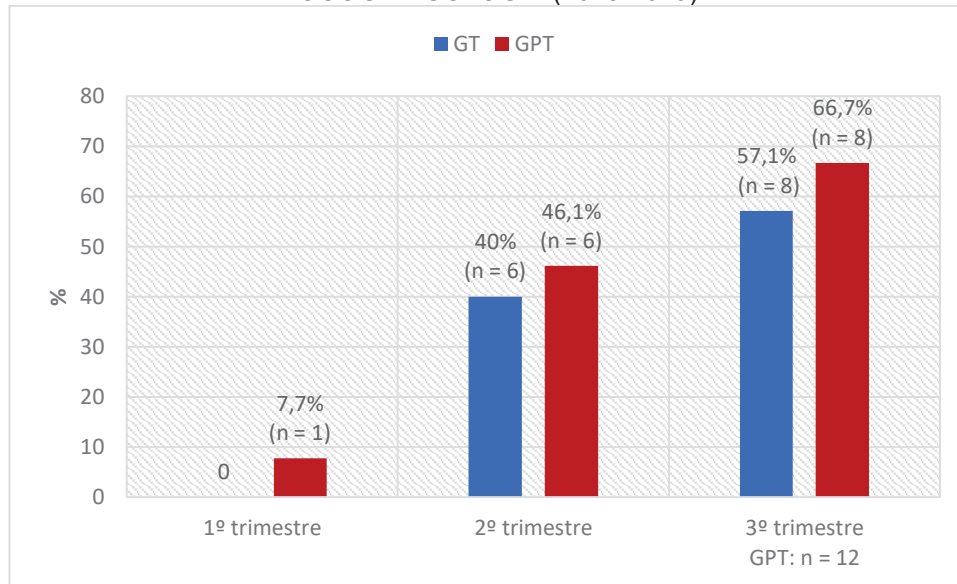
FONTE: O autor (2022)

NOTA: Médias e IC 95% Anova para medidas repetidas: p = 0,90

GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo IC: intervalo de confiança

O Gráfico 2 ilustra a frequência de positividade para microrganismos nas três avaliações, semelhante nos dois grupos ($p > 0,05$), ou seja, a prevalência destes microrganismos não se mostrou estatisticamente significativa em função da história de gestação a termo (GPT) ou pré-termo (GPT).

GRÁFICO 2 – PREVALÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS ALVO (*MYCOPLASMA HOMINIS*, *MYCOPLASMA GENITALIUM*, *UREAPLASMA UREALYTICUM* E *UREAPLASMA PARVUM*) NA ADMISSÃO E FOLLOW-UP DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)



FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher: 1º trimestre: $p = 0,46$ 2º trimestre: $p = 1,00$ 3º trimestre: $p = 0,70$

GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo

Na avaliação do meio ambiente vaginal por meio do escore de Nugent, por bacterioscopia, não se observou diferença entre os grupos em relação à sua classificação ou frequência de positividade para microrganismos como *M. hominis* ou *U. parvum* nos três trimestres ($p > 0,05$) (Tabela 8).

O fluxograma ilustra a evolução dos casos estudados no que se refere à positividade para microrganismos. Entre as 15 gestantes do GT, todas foram negativas para microrganismos no 1º trimestre. No 2º trimestre seis gestantes apresentaram resultado positivo para *U. parvum*, das quais quatro permaneceram positivas no 3º trimestre para o mesmo microrganismo, associado à *M. hominis* e uma positiva somente para *M. hominis*. Das nove negativas no 2º trimestre, três foram positivas para *U. parvum*.

TABELA 8 – CLASSIFICAÇÃO DE NUGENT E POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO - SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)

<i>FOLLOW-UP</i>	GT (n = 15)	GPT (n = 13)	p
1º trimestre			
Nugent > 6	1 (6,7%)	5 (38,5%)	0,11
<i>M. hominis</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,94
<i>U. parvum</i>	0 (0,0%)	1 (7,7%)	1,00
2º trimestre			
Nugent > 6	0 (0,0%)	3 (23,1%)	0,17
<i>M. hominis</i>	0 (0,0%)	1 (7,7%)	0,94
<i>U. parvum</i>	6 (40,0%)	5 (38,5%)	0,75
3º trimestre			
Nugent > 6	0 (0,0%)	3 (23,1%)	0,17
<i>M. hominis</i>	3 (20,0%)	3 (23,1%)	0,69
<i>U. parvum</i>	7 (46,7%)	7 (53,8%)	0,95
Frequência acumulada			
Nugent > 6	1 (6,7%)	11 (84,6%)	< 0,001
<i>M. hominis</i>	3 (20,0%)	4 (30,8%)	0,78
<i>U. parvum</i>	13 (86,7%)	10 (76,9%)	0,85

FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher

GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo

Entre as 13 gestantes do GPT, somente uma foi positiva para *U. parvum* no 1º trimestre, gestante esta que apresentou resultado negativo no 2º trimestre e novamente positivo para o mesmo microrganismo no 3º trimestre. Das 12 com exame negativo no 1º trimestre, seis foram positivas no 2º trimestre, cinco para *U. parvum* e uma para *M. hominis*. Das cinco com *U. parvum*, quatro permaneceram positivas no 3º trimestre e uma não teve seu exame realizado. A paciente com *M. hominis* se manteve positiva no 3º trimestre (Figura 1).

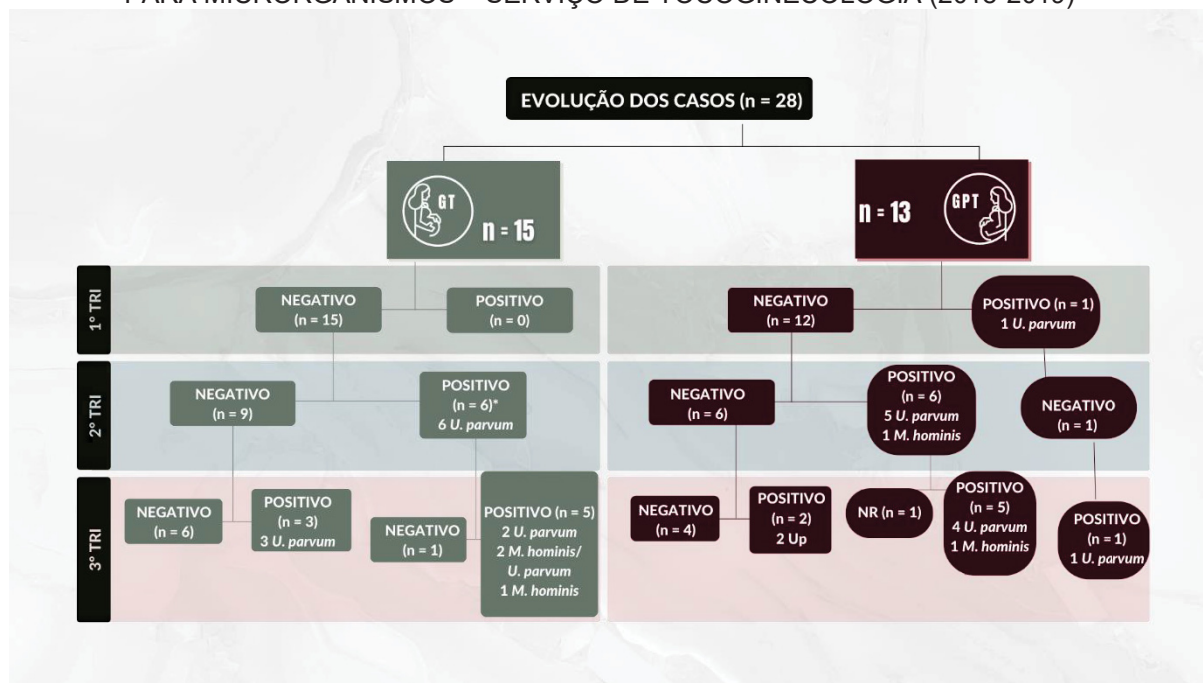
Observou-se aumento significativo de positividade para microrganismos no ambiente vaginal entre os trimestres, passando de um caso no 1º trimestre (3,6%) para 12 casos no 2º trimestre (42,8%) ($p < 0,001$) e 18 casos no 3º trimestre (64,3%) ($p < 0,001$) (Tabela 9).

Não se observou diferença entre o GT e GPT em relação a frequência de positividade para *U. parvum* e *M. hominis* ($p > 0,05$). Considerando o acompanhamento, verificou-se que no GT houve aumento significativo de *U. parvum* do 1º para o 2º trimestre ($p = 0,02$) e do 1º para o 3º trimestre ($p = 0,01$). No GPT isto somente foi observado do 1º para o 3º trimestre ($p = 0,03$). Para o *M. hominis* não

houve diferença na sua frequência nos diferentes trimestres nos dois grupos ($p > 0,05$). Considerando a positividade por *U. parvum* ou *M. hominis* no GT houve diferença significativa entre o 1º e o 2º ($p = 0,02$) e 1º e 3º trimestre ($p < 0,001$). No GPT a diferença entre o 1º e 2º trimestre foi limítrofe ($p = 0,08$) e entre o 1º e 3º trimestre significativa ($p = 0,01$). Nos dois grupos não houve diferença significativa entre o 2º e 3º trimestre ($p > 0,05$) (Tabela 9).

A prevalência geral de positividade para *U. parvum* ou *M. hominis* foi de 3,6% no 1º trimestre, 42,8% no 2º trimestre e 64,3% no 3º trimestre (Gráfico 3).

FIGURA 1 – FLUXOGRAMA DA EVOLUÇÃO DOS CASOS EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS – SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)

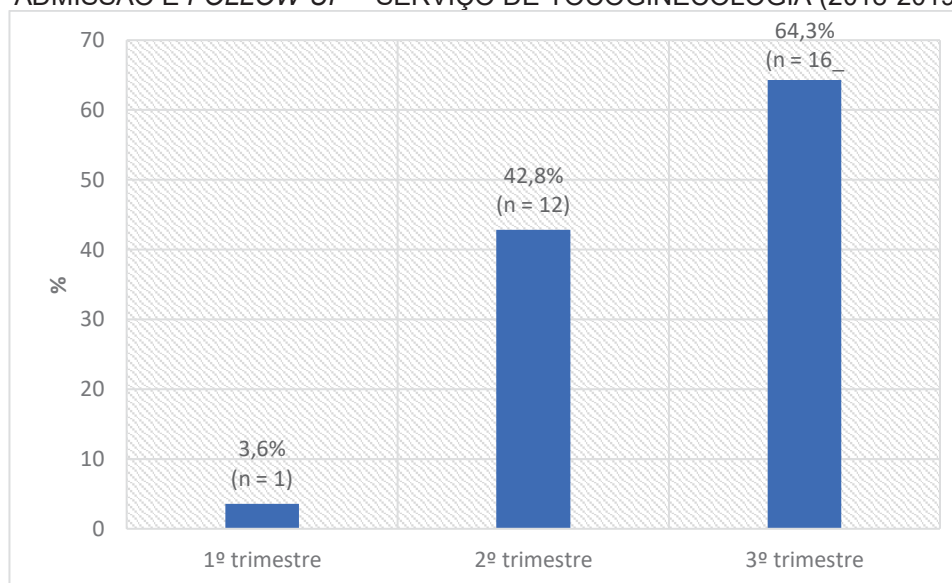


FONTE: O autor (2022)

GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo

NR = não realizado

GRÁFICO 3 – PREVALÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS NA ADMISSÃO E FOLLOW-UP – SERVIÇO DE TOCOGINECOLOGIA (2018-2019)



FONTE: O autor (2022)

TABELA 9 - NÚMERO E TOTAL DE CASOS DE POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS DE ACORDO COM O TRIMESTRE DE GESTAÇÃO

Trimestre de Gestação	GT (n = 15) n (%)			GPT (n = 13) n (%)			p ¹ (<i>U. parvum</i>)	p ² (<i>M. hominis</i>)	p ³ (T)	<i>U. parvum</i> + <i>M. hominis</i> (n = 28)
	<i>U. parvum</i>	<i>M. hominis</i>	TOTAL (n = 15)	<i>U. parvum</i>	<i>M. hominis</i>	TOTAL (n = 13)				
1º trimestre	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (7,7)	0 (0,0)	1 (7,7)	0,90	1,00	0,90	1 (3,6)
2º trimestre	6 (40,0)	0 (0,0)	6 (40,0)	5 (38,5)	1 (7,7)	6 (46,1)	0,77	0,90	0,94	12 (42,8)
3º trimestre	7 (46,7)	3 (20,0)	10 (66,7)	7 (53,8)	1 (7,7)	8 (61,5)	0,88	0,71	0,94	18 (64,3)
Total	13 (86,7)	3 (20,0)	16 (106,7)	13 (100,0)	2 (15,4)	15 (115,4)	0,54	0,88	0,87	31 (110,7)
p (1º x 2º trimestre)	0,02	1,00	0,02	0,17	0,96	0,08				< 0,001
p (1º x 3º trimestre)	0,01	0,22	< 0,001	0,03	0,96	0,01				< 0,001
p (2º x 3º trimestre)	0,97	0,22	0,28	0,70	1,00	0,70				0,16

FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher: ¹Comparação de frequência de *U. parvum* entre GT e GPT ²Comparação de frequência de *M. hominis* entre GT e GPT ³Comparação de frequência de *M. hominis* + *U. parvum* entre GT e GPT GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo T = Total

Entre as 28 gestantes em uma (3,6%) foi registrado o desfecho de prematuridade no GT (p = 1,00) (Tabela 10).

TABELA 10 – DESFECHO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE ESTUDO
- SERVIÇO DE TOCGINECOLOGIA (2018-2019)

FOLLOW-UP	GT (n = 15)	GPT (n = 13)	p
A termo	14 (93,3%)	13 (100,0%)	1,00
Prematuro	1 (6,7%)	0 (0,0%)	

FONTE: O autor (2022)

NOTA: Teste exato de Fisher GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo

Na Tabela 11 está apresentada a descrição de todos os casos de acordo com a positividade à microrganismos, grupo de desfecho da gestação prévia e desfecho da gestação atual. O único caso de prematuridade foi observado no GT, em uma gestante positiva para *U. parvum* no 2º trimestre e para *U. parvum* e *M. hominis* no 3º trimestre. Outro caso com dupla positividade foi vista também neste grupo, mas com nascimento a termo.

TABELA 11 – DESCRIÇÃO DOS CASOS QUANTO À POSITIVIDADE PARA MICRORGANISMOS, GRUPO DE DESFECHO DA GESTAÇÃO ANTERIOR E DESFECHO DA GESTAÇÃO ATUAL

CASO	1º TRIMESTRE	2º TRIMESTRE	3º TRIMESTRE	GRUPO	DESFECHO
1	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
2	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GT	Termo
3	Negativo	Negativo	<i>U. parvum</i>	GT	Termo
4	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>M. hominis/U. parvum</i>	GT	Pré-termo
5	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
6	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
7	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>M. hominis</i>	GT	Termo
8	Negativo	Negativo	<i>U. parvum</i>	GT	Termo
9	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
10	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GT	Termo
11	Negativo	<i>U. parvum</i>	Negativo	GT	Termo
12	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
13	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>M. hominis/U. parvum</i>	GT	Termo
14	Negativo	Negativo	Negativo	GT	Termo
15	Negativo	Negativo	<i>U. parvum</i>	GT	Termo
16	Negativo	<i>U. parvum</i>	Negativo	GPT	Termo
17	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GPT	Termo
18	Negativo	Negativo	<i>M. hominis</i>	GPT	Termo
19	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GPT	Termo
20	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GPT	Termo
21	Negativo	Negativo	Negativo	GPT	Termo
22	Negativo	<i>U. parvum</i>	<i>U. parvum</i>	GPT	Termo
23	Negativo	Negativo	<i>M. hominis</i>	GPT	Termo
24	<i>U. parvum</i>	Negativo	<i>U. parvum</i>	GPT	Termo
25	Negativo	Negativo	Negativo	GPT	Termo
26	Negativo	Negativo	Negativo	GPT	Termo
27	Negativo	<i>M. hominis</i>	<i>M. hominis</i>	GPT	Termo
28	Negativo	Negativo	Negativo	GPT	Termo

FONTE: O autor (2022)

NOTA: GT = Grupo com história de gestação de termo GPT = Grupo com história de gestação pré-termo

5 DISCUSSÃO

A presença de micoplasmas na gestação tem sido associada com a ocorrência de prematuridade e abortamento espontâneo (CAPOCCIA; GREUG; BUAD, 2013). Dentre as principais espécies de micoplasmas que são encontradas no TGI, a *M. genitalium* é a única reconhecida como causadora de infecções locais. Nos últimos 12 anos, dezesseis revisões sistemáticas sobre o *M. genitalium* foram realizadas, sendo apenas duas delas voltadas para o impacto desta infecção sobre a gestação e seus desfechos. Larsen e Hwang (2010) mostraram que micoplasmas genitais podem infectar os produtos da concepção e que o *U. urealyticum* seria o mais virulento dos organismos oportunistas, mas também mostrou que o *U. parvum* é o mais prevalente e que está associado com aborto tardio e prematuridade. Por fim, deixaram o dilema: se realmente pode ser incriminado um único organismo na causa da prematuridade ou se seria prudente considerar a totalidade da flora vaginal.

Viscardi (2010), em sua revisão, afirmou que são necessários mais estudos para avaliação dos fatores de virulência do *Ureaplasma spp.*, assim como a susceptibilidade da resposta imune do hospedeiro a estes patógenos e a variabilidade da resposta inflamatória.

O parto prematuro, cuja etiologia é multifatorial, está frequentemente associado às infecções por *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum*, especialmente os casos com RUPREME (MARCONI *et al.*, 2011; MURTHA; EDWARDS, 2014). Dessa forma, o presente estudo pesquisou presença de tais espécies de micoplasmas em gestantes com gestação a termo e pré-termo e demonstrou que não houve diferença na prevalência entre as duas populações estudadas. Dentre os microorganismos do estudo o de maior prevalência foi o *U. parvum*, seguido de *M. hominis*, e houve variação significativa de positividade para estes microorganismos ao longo da gestação, com aumento nos dois últimos trimestres. Importante salientar que não se dispõe de dados a respeito da infecção por *Ureaplasma spp.* e *Mycoplasma spp.* na população do serviço em que o estudo foi conduzido.

A transmissão vertical deste tipo de infecção já está bem documentada podendo ocorrer por via transplacentária, via ascendente, intraparto, por meio de colonização do TGI, pós-parto e por transmissão horizontal ou nosocomial. As taxas de transmissão variam de 18 a 55% entre RN a termo e de 29% a 55% entre RN prematuros. A transmissão vertical está especialmente associada à presença de

corioamnionite (ROMERO; DEY; FISHER, 2014). Assim, observa-se que os RN prematuros extremos são os considerados de maior risco, com mais de 20% do que os com idade gestacional entre 23 e 32 semanas com bacteriemia por *Mycoplasmas* spp. (CAPOCCIA; GREUB; BAUD, 2013; MURTHA; EDWARDS, 2014).

Existem, ainda, sugestão de associação de colonização e/ou infecção por estes microrganismos e a ocorrência de hemorragia peri/intraventricular entre RN prematuros colonizados por *Ureaplasma* spp., especialmente pelo biovariantes *U. parvum* (MURTHA; EDWARDS, 2014).

Não se sabe se a infecção por *M. genitalium* se porta como fator de risco independente para as diferentes morbidades neonatais (MURTHA; EDWARDS, 2014). Entretanto, alguns autores não encontraram a mesma associação, observando taxas semelhantes de identificação de *M. genitalium* entre gestantes com e sem colonização/infecção (CHOI *et al.*, 2012; TAKAKURA *et al.*, 2020).

Ureaplasma ssp. são os organismos mais frequentemente encontrados no líquido amniótico de mulheres com parto prematuro com bolsa íntegra (YOON; CHANG; ROMERO, 1998; CAPOCCIA; GREUB; BAUD, 2013).

A corioamnionite é causada predominantemente por um único microrganismo, sendo o gênero *Ureaplasma* o mais comumente envolvido (GERBER *et al.*, 2003; KASPER *et al.*, 2010; SWEENEY *et al.*, 2016a), independentemente da idade gestacional.

O presente estudo não mostrou associação das gestantes que consumiam álcool, drogas ou tabagistas com o histórico de gestação pré-termo, diferente do reportado por outros autores (VOUGA *et al.*, 2014; PAYNE *et al.*, 2016). Além disso, o tabagismo aumenta a susceptibilidade à infecção e está comprovada a associação entre tabagismo e VB (BAGAITKAR; DEMUTH; SCOTT, 2008; BROTMAN *et al.*, 2014).

Em relação à classificação da microbiota vaginal pelos critérios de Nugent, neste estudo não se observou diferença entre os grupos em relação a sua classificação ou a frequência de positividade para microrganismos como *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, VB e o histórico de parto prematuro. Entretanto, quando se somam os casos dos três trimestres e se compara em relação ao desfecho, foi observada diferença estatisticamente significativa (um caso no GT *versus* 11 casos no GPT). Breugelmans *et al.* (2010) observaram que não existe associação entre microbiota vaginal anormal e parto prematuro, entretanto microbiota vaginal anormal

é mais comum em pacientes com parto prematuro (22,7%) do que entre pacientes com parto de termo (14,4%). Entretanto, mulheres com microbiota vaginal anormal e infecção por *Ureaplasma* spp. possuem aumento significativo de parto prematuro. As alterações na microbiota vaginal como resposta imune do hospedeiro, virulência do microorganismo ou presença de fatores locais no trato genital inferior podem favorecer a invasão de *Ureaplasma* spp. (BREUGELMANS *et al.*, 2010).

A maioria dos estudos, até aqui, que relacionam *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp., foram realizados em uma única vez durante toda a gestação, sem avaliação da dinâmica da colonização. Na presente pesquisa foram coletadas amostras em três ocasiões, sendo uma em cada trimestre.

As principais revisões sistemáticas, até o momento, não suportam evidências consistentes de associação entre a colonização/infecção por *M. genitalium* e indicam que os estudos devem se voltar para a pesquisa utilizando amplificação de DNA desse microorganismo por PCR para elucidar seu papel na gestação e seus desfechos, desde que a ausência de tipificação correta pode ser exatamente a razão da divergência dos resultados encontrados (VALLELY *et al.*, 2018; MA *et al.*, 2021).

Neste estudo o microorganismo mais detectado foi *Ureaplasma* spp. apresentando frequência acumulada de 86,7% no GT e de 100,0% no GPT, em concordância com outros estudos como o de Kataoka *et al.* (2006) (52% no total e 85,7% no grupo dos partos pré-termo) e Breugelmans *et al.* (2010) (42% no total e 53,6% no grupo dos prematuros).

Alguns estudos mais recentes também não apontam para associação consistente entre a infecção por estes microrganismos e prematuridade. Tétu *et al.* (2020), em seu estudo coorte com 821 gestantes, que realizaram amniocentese com 14 a 24 semanas para estudos genéticos, obtiveram parto espontâneo prematuro (< 35 semanas) em 26 casos (3,2%), todos negativos para PCR para *Mycoplasma* spp.

O presente estudo, igualmente, encontrou que a infecção pelo *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. não aumentou o número de prematuridade, assim como o estudo realizado por Vogel *et al.* (2006), apesar de terem sido os microrganismos mais comumente encontrados nos dois grupos do estudo, embora muitos estudos relacionem a infecção pelo *U. parvum* como fator independente de risco para prematuridade (ROMERO *et al.*, 1993; KATAOKA *et al.*, 2006; BREUGELMANS *et al.*, 2010; PAYNE *et al.*, 2016).

Na amostra aqui estudada o único caso de prematuridade foi positivo para *Ureaplasma* spp. no segundo trimestre e para *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma* spp. no terceiro trimestre, não permitindo, portanto, testar a associação das infecções pesquisadas com o desfecho da gestação atual. Payne *et al.* (2016) mostraram aumento de prematuridade quando a infecção pelo *Ureaplasma* spp. está associada com infecção por *Candida* spp., principalmente durante o segundo trimestre da gestação, podendo ser um indicador de risco de prematuridade.

No presente estudo o *U. parvum* também foi o mais prevalente nos dois grupos de estudo, em concordância com Albert *et al.* (2015) e também foi mais prevalente no terceiro trimestre, principalmente no GPT, o que também mostrou Payne *et al.* (2016) em seu estudo. A combinação entre alteração da microbiota vaginal e a presença de *Ureaplasma* spp. foi sugerida como um fator relacionado e independente para prematuridade, com frequência de 17,5% (BREUGELMANS *et al.*, 2010), embora não se tenha observado esta relação na presente amostra.

E embora não se tenha evidenciado diferença estatisticamente significativa, o GPT apresentou maior positividade para microrganismos que o GT. Outro ponto relevante observado foi a preponderância de presença de agentes no 2º e 3º trimestre, enquanto que no 1º trimestre não ocorreu, sugerindo algum efeito característico de cada trimestre – imunológico, hormonal ou outro – que possa ter este papel em dificultar a presença no início da gestação ou sugerindo que a presença da gestação em trimestres mais avançados possa ser um fator para facilitar esta presença. Chan *et al.* mostraram que a depleção de espécies de *Lactobacillus* e aumento da diversidade bacteriana conduz ao aumento da ligação da lecitina manose, IgM, IgG, C3b, C5, IL8, IL6 e IL-1 β , aumentando o risco de parto prematuro. Estes autores propõem que a desregulação da resposta do sistema imune inato e adaptativo, por meio do efeito da cascata de complemento, seria um dos gatilhos da microbiota relacionado ao parto prematuro.

Na presente pesquisa foram coletadas amostras em três ocasiões, sendo uma em cada trimestre. A prevalência variável dos mesmos nos 3 trimestres da gestação foi informação que ainda não se dispunha na literatura. Se observou aumento de *Mycoplasma* spp. ao longo dos trimestres da gestação e de forma categórica uma vez que as amostras foram coletadas nas mesmas pacientes a medida que a gestação evoluía, de forma transversal e prospectiva

Ainda não é possível afirmar quais os mecanismos envolvidos no aumento da prevalência de *Mycoplasmas* spp. nos dois trimestres finais da gestação. Dessa forma, são necessários estudos futuros visando a elucidação desses achados, bem como se esse aumento pode ter alguma influência no desfecho gestacional, particularmente em relação à prematuridade.

6 CONCLUSÃO

1. A prevalência de micoplasmas genitais não esteve associada com o histórico de prematuridade espontânea;
2. Houve variação significativa de positividade para os microrganismos de estudo ao longo da gestação, com aumento nos dois últimos trimestres.

REFERÊNCIAS

- ABELE-HORN, M.; WOLFF, C.; DRESSEL, P.; PFAFF, F.; ZIMMERMANN, A. Association of *Ureaplasma urealyticum* biovars with clinical outcome for neonates, obstetric patients, and gynecological patients with pelvic inflammatory disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 5, p. 1199-1202, 1997.
- ALBERT, A. Y. K.; CHABAN, B.; WAGNER, E. C.; SCHELLENBERG, J. J.; LINKS, M. G.; SCHALKWYK, J. V. *et al.* A study of the vaginal microbiome in healthy Canadian women utilizing cpn60. Based molecular profiling reveals distinct *Gardenerella* subgroup community state types. **Plos One**, v. 10, n. 8, p. e0135620, 2015.
- ANDREWS, W. W.; SHAH, S. R.; GOLDENBERG, R. L.; CLIVER, S. P.; HAUTH, J. C.; CASSELL, G. H. Association of post-cesarean delivery endometritis with colonization of the chorioamnion by *Ureaplasma urealyticum*. **Obstetrics and Gynecology**, v. 85, n. 4, p. 509-514, 1995.
- AVCHEN, R. N.; SCOTT, K. G.; MASON, C. A. Birth weight and school-age disabilities: a population-based study. **American Journal Epidemiology**, v. 154, n. 10, p. 895-901, 2001.
- BAGAITKAR, J.; DEMUTH, D. R.; SCOTT, D. A. Tobacco use increases susceptibility to bacterial infection. **Tobacco Induced Diseases**, v. 4, n. 1, p. 12, 2008.
- BARTKEVICIENE, D.; OPOLSKIENE, G.; BARTKEVICIUTE, A.; ARLAUSKIENE, A., LAUZIKIENE, D., ZAKAREVICIENE, J. *et al.* The impact of *Ureaplasma* infections on pregnancy complications. **Lybian Journal Medicine**, v. 15, n. 1., p. 1812821, 2020.
- BAYRAKTAR, M. R.; OZEROL, I. H.; GUCLUER, N., CELIK, O. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 2, p. e90-5, 2010.
- BICK, D. Born too soon: The global issue of preterm birth. **Midwifery**, v. 28, n. 4, p. 401-2, 2012.
- BLENCOWE, H.; COUSENS, S.; OESTERGAARD, M.; CHOU, D.; MOLLER, A. B.; NARWAL, R. *et al.* National, regional and worldwide estimates of preterm birth. **Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2162-72, 2012.
- BREUGELMANS, M.; VANCUTSEM, E.; NAESSENS, A.; LAUBACH, M.; FOULON, W. Association of abnormal vaginal flora and *Ureaplasma* species as risk factors for preterm birth: a cohort study. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 89, n. 2, p. 256-260, 2010.
- BROTMAN, R. M.; HE, X.; GAJER, P.; FADROSH, D.; SHARMA, E.; MONGODIN, E. *et al.* Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 471, 2014.
- CAPOCCIA, R.; GREUB, G.; BAUD, D. *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, p. 231-40, 2013.

- CASSELL, G. H.; DAVIS, R. O.; WAITES, K. B.; BROWN, M. B.; MARRIOTT, P. A.; STAGNO, S. *et al.* Isolation of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* from amniotic fluid at 16–20 weeks of gestation: potential effect on outcome of pregnancy. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 10, n. 4, p. 294-302, 1983.
- CHAN, D.; BENNET, P. R.; LEE, Y. S.; KUNDU, S.; TEOH, T. G.; ADAN, M. *et al.* Microbial-driven preterm labour involves cross talk between the innate and adaptative immune response. **Nature Communications**, p. 1 - 15. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-28620-1>. Acesso em: 25 fev. 2022.
- CHOI, S. J.; PARK, S. D.; JANG, I. H.; UH, Y.; LEE, A. The prevalence of vaginal microorganisms in pregnant women with preterm labor and preterm birth. **Clinical Microbiology**, v. 32, p. 194-200, 2012.
- CHU, A.; MAURICE, A.; SIM, M. S.; KALLAPU, S. G. Neonatal *Mycoplasma* and *Ureaplasma* Infections. **Pediatric Annals**, v. 49, n. 7, p. e305-e312. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32674168/>. Acesso em: 22 jan 2021.
- CHUN, J.; CHUN, S. H.; HAN, Y. S.; SUNG, T. J. Different degrees of maternal *Ureaplasma* colonization and its correlation with bronhopulmonary dysplasia in < 32 weeks preterm infants. **Pediatrics and Neonatology**, v. 60, n. 4, p. 441-446, 2019.
- CÓDIGO DE NUREMBERG - 1947 – **Experimentação Humana**. 1 p. Disponível em: <https://www.fiocruz.br>. Acesso em: 03 jun 2020.
- COTCH, M. F.; PASTOREK, J. G.; NUGENT, R. P.; HILLIER, S. L.; GIBBS, R. S.; MARTIN, D. H. *et al.* *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 24, n. 6, p. 353-360, 1997.
- COX, C.; SAXENA, N.; WATT, A. P.; GANNON, C.; McKENNA, J. P.; FAIRLEY, D. J. *et al.* The common vaginal commensal bacterium *Ureaplasma parvum* is associated with chorioamnionitis in extreme preterm labor. **The Journal of Maternal-Fetal Neonatal Medicine**, v. 29, n. 22, p. 3646-3651, 2016.
- DE FRANCESCO, M. A.; NEGRINI, R.; PINSI, G.; PERONI, L.; MANCA, N. Detection of *Ureaplasma* biovars and polymerase chain reaction-based subtyping of *Ureaplasma parvum* in women with or without symptoms of genital infections. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 28, n. 6, p. 641-47, 2009.
- DECLARAÇÃO DE HELSINQUE DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA MUNDIAL (WM) – **Princípios Éticos para Pesquisa Médica Envolvendo Seres Humanos**. 6 p. Disponível em: <https://www.wma.net>. Acesso em: 25 mai 2020.
- DIENES, L.; EDSALL, G. Observations on the L-organism of Klieneberger. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 36, n. 5, p. 740-744, 1937.
- DIGIULIO, D. B.; ROMERO, R.; AMOGAN, H. P.; KUSANOVIC, J. P.; BIK, E. M.; GOTSCH, F. *et al.* Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. **PLoS One**, v. 3, n. 8, p. e3056, 2008.
- DONDERS, G. G. G.; RUBAN, K.; BELLEN, G., PETRICEVIC, L. *Mycoplasma/Ureaplasma* infection in pregnancy: to screen or not to screen. **Journal Perinatal Medicine**, v. 45, n. 5, p. 505-515, 2017.

DONDERS, G. G.; BULCK, B. V.; CAUNDRON, J.; LONDERS, L.; VEREECKEN, A.; SPITZ, B. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 183, n. 2, p. 431-437, 2000.

ELLIOTT, B.; BRUNHAM, R. C.; LAGA, M.; PIOT, P.; NDINYA-ACHOLA, J. O.; MAITHA, G. *et al.* Maternal gonococcal infection as a preventable risk factor for low birth weight. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 161, n. 3, p. 531-536, 1990.

GERBER, S.; VIAL, Y.; HOHLFELD, P. WITKIN, S. S. Detection of *Ureaplasma urealyticum* in second-trimester amniotic fluid by polymerase chain reaction correlates with subsequent preterm labor and delivery. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 187, n. 3, p. 518-521, 2003.

GIBBS, R. S. The origins of stillbirth: infectious diseases. **Seminars in Perinatology**, v. 26, n. 1, p. 75-78, 2002.

GOLDENBERG, R. L.; ANDREWS, W. W.; GOEPFERT, A. R.; PETERSEN-FAYE, O.; CLIVER, S. P.; CARLO, W. A. *et al.* The Alabama Preterm Birth Study: umbilical cord blood *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* cultures in very preterm newborn infants. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 198, n. 1, p. 43 e1-5, 2008.

GOLDENBERG, R. L.; ANDREWS, W. W.; HAUTH, J. C. Choriodecidual infection and preterm birth. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 5, p. S19-25, 2002.

GOLDENBERG, R. L.; CULHANE, J. F.; IAMS, J. D.; ROMERO, R. Epidemiology and causes of preterm birth. **Lancet**, v. 371, n. 9606, p. 75-84, 2008.

GOLDENBERG, R. L.; HAUTH, J. C.; ANDREWS, W. W. Intrauterine infection and preterm delivery. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 20, p. 1500-1507, 2000.

GRAVETT, M. G.; NELSON, H. P.; DEROUEN, T.; CRITCHLOW, C.; ESCHENBACH, D. A.; HOLMES, K. K. Independent associations of bacterial vaginosis and chlamydia trachomatis infection with adverse pregnancy outcome. **JAMA**, v. 256, n. 14, p. 1899-905, 1986.

HAMILTON, B. E.; MARTIN, J. A.; VENTURA, S. Births: preliminary data for 2009. **National Vital Statistics Reports**; v. 59, n. 3, p. 1-19, 2010.

HASSAN, S.; ROMERO, R.; HENDLER, I.; GOMEZ, R.; KHALEK, N.; ESPINOZA, J. *et al.* A sonographic short cervix as the only clinical manifestation of intra-amniotic infection. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 34, n. 1, p. 13-19, 2006.

HILLIER, S. L.; NUGENT, R. P.; ESCHENBACH, D. A.; KROHN, M. A.; GIBBS, R. S.; MARTIN, D. H. *et al.* Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. **The New England Journal of Medicine**, v. 333, n. 26, p. 1737-42, 1995.

HONMA, Y.; YADA, Y.; TAKAHASHI, N.; MOMOI, M. Y.; NAKAMURA, Y. Certain type of chronic lung disease of newborns is associated with *Ureaplasma urealyticum* infection in utero. **Pediatric International**, v. 49, n. 4, p. 479-484, 2007.

HOROWITZ, S.; HOROWITZ, J.; MAZOR, M.; PORATH, A.; GLEZERMAN, M. *Ureaplasma urealyticum* cervical colonization as a marker for pregnancy complications. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 48, n. 1, p. 15-19, 1995.

- KASPER, D. C.; MECHTLER, T. P.; REISCHER, G. H.; WITT, A.; LANGGARTNER, M.; POLLAK, A. *et al.* The bacterial load of *Ureaplasma parvum* in amniotic fluid is correlated with an increased intrauterine inflammatory response. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 67, n. 2, p. 117-121, 2010.
- KASPRZYKOWSKA, U.; ELIAS, J.; ELIAS, M.; MACZYNSKA, B.; SOBIESZCANSKA, B. M. Colonization of the lower urogenital tract with *Ureaplasma parvum* can cause asymptomatic infection of the upper reproductive system in women: a preliminar study. *Gynecologic Endocrinology and Reproductive Medicine, Archives of Gynecology and Obstetrics*, v. 289, n. 5, p. 1129-1134, 2014.
- KATAOKA, S.; YAMADA, T.; CHOU, K.; NISHIDA, R.; MORIKAWA, M.; MINAMI, M. *et al.* Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasmas in early pregnancy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 51-5, 2006.
- KELLY, V. N.; GARLAND, S. M.; GILBERT, G. L. Isolation of genital mycoplasmas from the blood of neonates and women with pelvic infection using conventional SPS-free blood culture media. **Pathology**, v. 19, n.3, p. 277-280, 1987.
- KIKHNEY, J.; SCHONING, D. V.; STEDING, I.; SCHULZE, J.; PETRICH, A.; HIERGEIST, A. *et al.* Is *Ureaplasma* spp. the leading causative agent of acute chorioamnionitis in women with preterm birth? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 2, p. 119.e1-119.e7, 2017.
- KWAK, D-W., HWANG, H-S.; KWON, J-Y.; PARK, Y-W.; KIM, Y-H. Co-infection with vaginal *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* increases adverse pregnancy outcomes in patients with preterm labor or premature rupture of membranes. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v.27, n. 4, p. 333-337, 2014.
- LABBÉ, A. C.; FROST, E.; DESLONDES, S.; MENDONÇA, A. P.; ALVES, A. C.; PÉPIN, J. *Mycoplasma genitalium* is not associated with adverse outcomes of pregnancy in Guinea-Bissau. **Sexually Transmitted Infections**, v. 78, n. 4, p. 289-291, 2002.
- LARSEN, B.; HWANG, J. *Mycoplasma, Ureaplasma* and Adverse Pregnancy Outcomes: A fresh Look. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 52, p. 521921, 2010.
- LAUGHON, S. K.; BERGHELLA, V.; REDDY, U. M.; SUNDARAM, R.; LU, Z.; HOFFMAN, M. K. Neonatal and maternal outcomes with prolonged second stage of labor. **Obstetrics and Gynecology**, v. 124, n. 1, p. 57-67, 2014.
- LINHARES, I. M.; BAGNOLI, V. R.; HALBE, H. W. Vaginose bacteriana, candidose e tricomoníase. In: HALBE, H. W. **Tratado de Ginecologia**. 2a ed, São Paulo: Rocca. 1994. p. 875-80.
- LIS, R.; ROWHANI-RAHBAR, A.; MANHART, L. E. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. **Clinics in Infectious Diseases**, v. 61, p. 418-426, 2015.
- LIU, L.; JOHNSON, H. L.; COUSENS, S.; PERIN, J.; SCOTT, S.; LAWN, J. E. *et al.* Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2151-216, 2012.

LOWE, J.; WATKINS, W. J.; EDWARDS, M. O.; SPILLER, O. B.; JACQZ-AIGRAIN, E.; KOTECHEA, S. J. *et al.* Association between pulmonary *Ureaplasma* colonization and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: updated systematic review and meta-analysis. **Pediatric Infection Disease**, v. 33, p. 697-702, 2014.

MA, C.; DU, J.; DOU, Y.; CHEN, R.; LI, X.; ZHAO, L. *et al.* The associations of genital mycoplasmas with female infertility and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Reproductive Sciences**, online ahead of print, 2021.

MARCONI, C.; DE ANDRADE RAMOS, B. R.; PERAÇOLI, J. C.; DONDEERS, G. G.; DA SILVA, M. G. Amniotic fluid interleukin-1 beta and interleukin-6, but not interleukin-8 correlate with microbial invasion of the amniotic cavity in preterm labor. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 65, n. 6, p. 549-56, 2011.

MCGOWIN, C. L.; ANDERSON-SMITS, C. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 5, p. e1001324, 2011.

MITSUNARI, M.; YOSHIDA, S.; DEURA, I.; HORIE, S.; TSUKIHARA, S.; HARADA, T. *et al.* Cervical *Ureaplasma urealyticum* colonization might be associated with increased incidence of preterm delivery in pregnant women without prop logistic microorganisms on routine examination. **The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 31, n. 1, p. 16–21. 33, 2005.

MIYOSHI, Y.; SUGAA, S.; SUGIMIA, S.; KURATA, N.; YAMASHITA, H.; YASUHI, I. Vaginal *Ureaplasma urealyticum* or *Mycoplasma hominis* and preterm delivery in women with threatened preterm labor. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**. 1-6, 2020

MUGLIA, L. J.; KATZ, M. The enigma of spontaneous preterm birth. **The New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 6, p. 529-535, 2010.

MURPHY, S. L.; MATHEWS, T. J.; MARTIM, J. A.; MINKOVITZ, C. S.; STROBINO, D. M. Annual Summary of Vital Statistics 2013-2014. **Pediatrics**; v. 139, n. 6, p. e20163239, 2017.

MURTA, A. P.; EDWARDS, J. M. The role of mycoplasma and *Ureaplasma* in adverse pregnancy outcomes. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 41, p. 615-627, 2014.

NUGENT, R. P.; KROHN, M. A.; HILLIER, S. L. Reability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 297-301, 1991.

OLIVEIRA, E.; H.; S. **Avaliação do perfil clínico e microbiológico periodontal de mães e bebês prematuros e nascidos a termo**. 2022. 91f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Pós-graduação em Clínica Odontológica, Curitiba, 2022.

PAYNE, M. S.; IRELAND, D. J.; WATTS, R.; NATHAN, E. A.; FURFARO, L. L.; KEMP, M. W. *et al.* *Ureaplasma parvum* genotype, combined vaginal colonization with *Candida albicans*, and spontaneous preterm birth in an Australian cohort of pregnant women. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 16, n. 1, p. 312, 2016.

PELTIER, M. R. Immunology of term and preterm labor. **Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E**, v. 2, n. 1, p. 122, 2003.

POTASMAN, I.; OREN, A.; SRUGO, I. Isolation of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* from public toilet bowls. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 20, n. 1, p. 66–68, 1999.

REGAN, J. A.; CHAO, S.; JAMES, S. L. Premature rupture of membranes, preterm delivery, and group B streptococcal colonization of mothers. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 141, n. 2, p. 184-6, 1981.

RICKERT, V. I.; WIEMANN, C. M.; HANKINS, G. D.; MCKEE, J. M.; BERENSON, A. B. Prevalence and risk factors of chorioamnionitis among adolescents. **Obstetrics and Gynecology**, v. 92, n. 2, p. 254-257, 1988.

RITTENSCHÖBER-BÖHM, J.; WALDHOER, T.; SCHULZ, S.M.; PIMPEL, B.; GOERAL, K.; KASPER, D.C. *et al.* *Ureaplasma parvum* serovars and spontaneous preterm birth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 220, n. 6, p. 594.e1-594.e9, 2019.

ROBERTSON, J. A.; STEMKE, G. W. Expanded serotyping scheme for *Ureaplasma urealyticum* strains isolated from humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 5, p. 873-878, 1982.

ROBERTSON, J. A.; STEMKE, G. W.; DAVIS, J. W.; HARASAWA, R.; THIRKELL, D.; KONG, F. *et al.* Proposal of *Ureaplasma parvum* sp. nov. and emended description of *Ureaplasma urealyticum* (Shepard *et al.* 1974). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. Pt 2, p. 587-597, 2002.

ROMERO, R.; DEY, S. K.; FISHER, S. J. Preterm labor: one syndrome, many causes. **Science**, v. 345, n. 6198, p. 760-765, 2014.

ROMERO, R.; YOON, B. H.; MAZOR, M.; GOMEZ, R.; GONZALES, R.; DIAMOND, M. P. *et al.* A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6, and Gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.169, n. 4, p. 839-851, 1993.

SEONG, H. S.; LEE, S. E.; KANG, J. H.; ROMERO, R.; YOON, B. H. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 199, n. 4, p. 375.e1-375.e5, 2008.

SHEPARD, M. C. The recovery of pleuropneumonia like organisms from Negro men with and without nongonococcal urethritis. **American Journal of Syphilis, Gonorrhoea and Venereal Diseases**, v. 38, n. 2, p. 113-124, 1954.

SPRONG, K. E.; MABENGE, M.; WRIGHT, C. A. *Ureaplasma* species and preterm birth: current perspectives. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 169-181, 2020.

SUZUKI, Y.; HORIE, K.; YADA Y.; KONO, Y.; HIRASHIMA, C.; USUI, R. *et al.* Vaginal *Ureaplasma* species increase chorioamnionitis in very preterm infants with premature rupture of the membranes at < 28 weeks of gestation. **European Journal of Clinical Microbiology & Infections Diseases**, v. 37, p. 2371-2380, 2018.

SWAMY, G. K.; OSTBYE, T.; SKJAERVEN, R. Association of preterm birth with long-term survival, reproduction, and next-generation preterm birth. **JAMA**, v. 299, n. 12, p. 1429-1436, 2008.

SWEENEY, E. L.; DANDO, S. J.; KALLAPUR, S. G.; KNOX, C. L. The Human *Ureaplasma* Species as Causative Agents of Chorioamnionitis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 349-379, 2016.

SWEENEY, E. L.; KALLAPUR, S. G.; GISSLEN, T.; LAMBERS, D. S.; CHOUGNET, C. A.; STEPHENSON, S. A. *et al.* Placental Infection with *Ureaplasma* species is Associated with Histologic Chorioamnionitis and Adverse Outcomes in Moderately Preterm and Late-Preterm Infants. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 213, n. 8, p. 1340-7, 2016.

SWEENEY, E. L.; KALLAPUR, S. G.; MEAWAD, S.; GISSLEN, T.; STEPHENSON, S.-A.; JOBE, A.H. *et al.* *Ureaplasma* species multiple banded antigen (MBA) variation is associated with the severity of inflammation in vivo and in vitro in human placentae. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 123, 2017.

TAKAKURA, S.; KODAMA Y.; YAMASHITA R.; KINO, E.; KAWANO, N.; TOMIMORI, K. *et al.* Characteristics and influence of *Mycoplasma/Ureaplasma* cultures in amniotic fluid on perinatal outcomes. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 46, n. 3., p. 389-395, 2020.

TÉTU, A.; GUERBY, P.; RALLU, F.; DUPERRON, L.; MORIN, V.; BUJOLD, E. Mid-trimester microbial invasion of the amniotic cavity and the risk of preterm birth. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 26, n. 5, online ahead of print, 2020.

TITA, A. T.; ANDREWS, W. W. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. **Clinics in Perinatology**, v. 37, n. 2, p. 339-354, 2010.

VALLELLY, L. M.; EGLI-GANY, D.; POMAT, W.; HOMER, C. S.; GUY, R.; WAND, H. *et al.* Adverse pregnancy and neonatal outcomes associated with *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genital*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum*: a systematic review and metaanalysis protocol. **British Medical Journal Open**, v. 8, p. e024175, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6278811/pdf/bmjopen-2018-024175.pdf>. Acesso em: 12 fev 2021.

VISCARDI, R. M. *Ureaplasma* species: role in diseases of prematurity. **Clinics in Perinatology**, v. 37, n. 2, p. 393-409, 2010.

VISCARDI, R. M.; HASHMI, N.; GROSS, G. W.; SUN, C-C. J.; RODRIGUEZ, A.; FAIRCHILD, K. D. Incidence of invasive *Ureaplasma* in VLBW infants: relationship to severe intraventricular hemorrhage. **Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association**, v. 28, n. 11, p. 759-765, 2008.

VOGEL, I.; THORSEN, P.; HOGAN, V. K.; SCHIEVE, L. A.; JACOBSSON, B.; FERRE, C. D. The joint effect of vaginal *Ureaplasma urealyticum* and bacterial vaginosis on adverse pregnancy outcomes. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 85, n. 7, p. 778-8, 2006.

VOLGMANN, T.; OHLINGER, R.; PANZIG, B. *Ureaplasma urealyticum*-harmless commensal or underestimated enemy of human reproduction? A review. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 273, n. 3, p. 133-139, 2005

VOUGA, M.; GREUB, G.; PROD'HOM, G.; DURUSSEL, C.; ROTH-KLEINER, M.; VASILEVSKY, S. *et al.* Treatment of genital mycoplasma in colonized pregnant women in late pregnancy is associated with a lower rate of premature labour and

neonatal complications. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. 1074-1079, 2014.

WAITES, K. B.; KATZ, B.; SCHELONKA, R. L. Mycoplasmas and *Ureaplasmas* as Neonatal Pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 4, p. 757-89, 2005.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. March of Dimes, Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children. **Born too soon: the global action report on preterm birth**. Disponível em:

https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/born_too_soon/en/. Acesso em: 12 fev. 2021.

XIAO, L.; PARALANOV, V.; GLASS, J. I.; DUFFY, L. B.; ROBERTSON, J. A.; CASSELL, G. H. *et al.* Extensive horizontal gene transfer in *Ureaplasmas* from humans questions the utility of serotyping for diagnostic purposes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 2818-26, 2011.

YADA, Y.; HONMA, Y.; KOIKE, Y.; TAKAHASHI, N.; MOMOI, M. Y. Association of development of chronic lung disease of newborns with neonatal colonization of *Ureaplasma* and cord blood interleukin-8 level. **Pediatric International**, v. 52, p. 718-722, 2010.

YOON, B. H.; CHANG, J. W.; ROMERO, R. Isolation of *Ureaplasma urealyticum* from the amniotic cavity and adverse outcome in preterm labor. **Obstetrics and Gynecology**, v. 92, n. 1, p. 77-82, 1998.

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, Camila Marconi, Professora do Departamento de Patologia Básica do Setor de Ciência Biológica da Universidade Federal do Paraná, convido a senhora, atualmente gestante, para participar da pesquisa “**Busca ativa das infecções do trato genital inferior e alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto risco para prematuridade**”, que tem por objetivo conhecer os tipos de micro-organismos que infectam o colo uterino e a vagina da mulher ao longo da gravidez e como eles se relacionam com o parto prematuro. Essa pesquisa é realizada em conjunto com o Prof. Dr. Newton Sergio Carvalho Hospital de Clínicas da UFPR além do Prof. Dr. Marcos Takimura da Maternidade Victor Ferreira do Amaral, das Dras Carolina Andrade e Joany Helen Lopes Unidade Básicas de Saúde de Campo Largo e Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Para sua participação será necessário responder as questões da entrevista e realizar um exame ginecológico com as pessoas autorizadas para isso (médicos) que fazem parte do estudo. Para o exame, será necessária a introdução de um aparelho de metal ou plástico, estéril, conhecido como “bico de pato” (espéculo), que afastará as paredes vaginais, a fim de permitir a visualização das paredes vaginais e do colo do útero, bem como a coleta de amostras (secreção) para exames laboratoriais. O material da parede vaginal e do colo do útero será coletado por meio de um cotonete, para verificação da presença de micro-organismos. Esse é um exame ginecológico comum em que o desconforto está relacionado à introdução do espéculo. Esse material coletado será analisado na Universidade Federal do Paraná e também na Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, pela responsável pelo projeto a Dra. Camila Marconi, portanto seu material será transportado dentro do país, com fins exclusivamente de pesquisa. O material será o suficiente para fazer essa pesquisa, de forma que não haverá sobra de material para ser estocada, nem na UFPR e nem na UNESP.

Pelo presente instrumento, eu _____, devidamente esclarecida, ciente dos procedimentos aos quais serei submetida, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, declaro estar ciente de que as informações serão utilizadas exclusivamente pelos pesquisadores, que manterão sigilo sobre minha identidade, inclusive em relação às amostras que serão transportadas que não serão identificadas com meu nome apenas com um número gerado para a pesquisa. Também estou ciente que os pesquisadores envolvidos nesse estudo estarão disponíveis para responder a quaisquer perguntas e de que **posso retirar este consentimento a qualquer hora sem prejuízo do meu atendimento neste Hospital**, firmo meu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**, concordando em participar dessa pesquisa. É de meu conhecimento que não receberei qualquer ajuda financeira para a participação no projeto e nem terei que pagar pelos exames realizados. Está esclarecido também que esse estudo poderá trazer benefícios para mim, visto que caso haja exame(s) positivo(s) para qualquer infecção será oferecido para mim o tratamento adequado. Além disso, compreendo que esse estudo será importante para o entendimento de como os microrganismos que vivem na vagina e no colo do útero podem oferecer maior risco para o parto prematuro.

Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, no telefone (41) 3360-7259 ou com os pesquisadores, cujos dados encontram-se abaixo. Esse documento, após a aprovação do CEP, será elaborado em 2 vias, sendo uma entregue às participantes da pesquisa e outra será mantida em arquivo do pesquisador.

Curitiba, _____ de _____ de 20__

Assinatura da participante

Prof. Dra. Camila Marconi
Dept. de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas, UFPR
Jardim das Américas, Curitiba, Paraná - CEP: 81531-980
Fone: (41) 3528-5516. Horário: 8:00 às 18 horas.
e-mail: marconi@ufpr.br

Prof. Dra. Márcia Guimarães da Silva
Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, UNESP
Distrito de Rubião Jr. s/n. Botucatu, São Paulo - CEP: 81531-980
Fone: (14) 3880-1580. Horário: 8:00 às 18 horas.
e-mail: mgsilva@fmb.unesp.br

Prof. Dr. Marcos Takimura
Maternidade Victor Ferreira do Amaral
Av. Iguaçu, 1953 - Água Verde, Curitiba - PR, 81250-190
Fone: (41) 3312-5000. Horário: 14:00 às 18 horas.

Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho
Departamento de Tocoginecologia, Setor de Ciências da Saúde, UFPR
Hospital de Clínicas, 6º andar - Alto da Glória, Curitiba - PR, CEP 80060-241
Fone: (41) 3360-1800. Horário: 14:00 às 18 horas.

Dra. Carolina Andrade
Unidade da Mulher e da Criança
Rua Haroldo Hein, 2412, Campo Largo - PR, 83601-100
Fone: (41) 3393-4899. Horário: 8:00 às 17 horas.

Dra. Joany Helen Lopes

Prof. Dr. Edson Gomes Tristão
Departamento de Tocoginecologia, Setor de Ciências da Saúde, UFPR
Hospital de Clínicas, 6º andar - Alto da Glória, Curitiba - PR, CEP 80060-240
Fone: (41) 3360-1800. Horário: 14:00 às 18 horas.

Prof. Dr. Natalia Sales

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Setor de Ciências da
Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB.nº 2947665
na data de 08/10/2017. gcl

APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO PROJETO PREMATURIDADE



Projeto Prematuridade

Folha 1/2

Identificação: _____ Nome: _____

(a – 1º tri; b – 2º tri; c – 3º tri)

Data de Nascimento: ____/____/____ Telefone para contato: (____) _____ - _____

Idade Gestacional: ____ semanas e ____ dias () US () DUM

1. Mora com o parceiro: () Sim () Não
2. Etnia: () Caucasiano/europeu () Afro-americano () Indígena () Oriental / *Asiática*
3. Exerce atividade remunerada? () Sim () Não
4. Algum outro membro da família contribui para renda mensal? () Sim () Não
 - a. Renda mensal aproximada: _____
 - b. Quantos indivíduos são sustentados por essa renda? _____
5. Tabagismo :
() Não
() Sim, parou há mais de 1 ano
() Sim, parou há menos de 1 ano
() Sim, continua fumando. Quantidade: ____ / cigarros por dia
6. Faz uso de álcool?
() Não
() Sim, até descobrir a gestação
() Sim, continua bebendo. Frequência: _____
7. Faz uso de drogas ilícitas? () Sim () Não
 - a. Qual(is)?
Maconha ()
Crack ()
Cocaína ()
Heroína ()
Outras: _____
8. Novo parceiro (<4 meses) () Sim () Não
9. Número de parceiros (12 meses): _____
10. Relações sexuais por semana: _____
11. Teve alguma DST? () Sim () Não
 - a. Qual/Quando: _____
12. Teve corrimento tratado? () Sim () Não
 - a. Caso sim, com prurido associado? () Sim () Não
13. G _ P _ A _

14. Em relação às gestações anteriores:
- a. Aborto espontâneo < 3 meses? () Sim () Não
 - b. Recém nascido prematuro? () Sim () Não
 - c. Trabalho de parto prematuro? (<37 semanas) () Sim () Não
 - d. Rotura de membrana prematura? (<37 semanas) () Sim () Não
15. Data do último preventivo ____/____/____
- a. Resultado: () Normal () Alterações citopatológicas
 - b. Tratamento: _____

Queixas atuais:

- Corrimento atual anormal: () Sim () Não
Mau odor: () Sim () Não
Prurido: () Sim () Não

Exame Físico:

Ph: _____

Demais achados cervicovaginais: (JEC, mucopus, vulvite, aspecto conteúdo vaginal....)

Data referida:

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Busca ativa das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto risco para prematuridade.

Pesquisador: Camila Marconi

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57341416.3.1001.0102

Instituição Proponente: Departamento de Patologia Básica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.671.475

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa proveniente do Departamento de Patologia Básica da UFPR, sob responsabilidade da Prof. Camila Marconi, com participação dos pesquisadores Marcos Takimura (Maternidade Vítor Ferreira do Amaral), Newton Sérgio de Carvalho (Hospital de Clínicas) e Márcia Guimarães da Silva, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Os pesquisadores propõem estudo longitudinal e prospectivo, que será realizado 150 gestantes atendidas no serviço de pré-natal de baixo risco da Maternidade Vítor Ferreira do Amaral e no serviço de pré-natal de alto risco para prematuridade espontânea do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Serão convidadas para participar do estudo gestantes com idade entre 18 e 40 anos, gestação simples e idade gestacional inferior a 12 semanas no momento da primeira visita ao pré-natal. As participantes serão submetidas a coleta de material endocervical com cytobrush para detecção de infecções por Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae e Mycoplasma genitalium, e de amostras de lavado cérvico-vaginal serão utilizadas para detecção de T. vaginais. As análises para determinação do microbioma vaginal serão realizadas no Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno Infantil da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. A hipótese dos pesquisadores é de que as

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

Continuação do Parecer: 1.671.475

gestantes de alto risco para prematuridade espontânea apresentam maiores prevalências de infecções do trato genital inferior, de alterações e flutuações temporais na microbiota vaginal durante a gestação. O projeto prevê o financiamento mediante a concessão de auxílios-pesquisa do Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde (PPSUS) e do Edital Universal do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Avaliar o efeito do rastreamento sistematizado longitudinal das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal em gestantes com alto risco para prematuridade espontânea.

Objetivos específicos:

- Comparar a prevalência das infecções do trato genital inferior em gestantes de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Comparar a prevalência de alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Caracterizar o microbioma vaginal de gestantes de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Comparar o perfil de mediadores pró-inflamatórios nos diferentes tipos de comunidades bacterianas vaginais;
- Comparar os níveis de sialidases bacterianas nos diferentes tipos de comunidades bacterianas vaginais;
- Avaliar a dinâmica temporal do microbioma vaginal durante a gestação de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Determinar a associação dos padrões de microbiota vaginal determinados por microscopia com a real composição do microbioma;
- Testar a associação entre a maior prevalência de determinados tipos de comunidade bacteriana com o prognóstico gestacional;
- Comparar o desfecho gestacional nas duas populações do estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto aos riscos, os pesquisadores descrevem: As participantes serão submetidas a um questionário especialmente formulado para o estudo para obtenção dos dados sociodemográficos e comportamentais. Algumas gestantes poderão eventualmente se sentirem desconfortáveis em fornecer algumas respostas. Nesse sentido, profissionais previamente treinados deverão conduzir o questionário, de forma que deverão orientar as participantes do estudo que, caso optem,

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

Continuação do Parecer: 1.671.475

poderão deixar de responder algumas perguntas, sem prejuízo da sua inclusão no estudo. Já com relação ao diagnóstico das infecções do trato genital inferior, tendo em vista que muitas delas podem ser transmitidas pelo sexo, mediante um resultado positivo, apenas os profissionais da saúde de cada serviço poderão comunicar às participantes e indicar o tratamento. Além de estarem aptos a realizar o tratamento de quaisquer infecções detectadas nesse estudo, o corpo clínico dos serviços envolvidos também poderá oferecer apoio psicológico para as participantes.

As participantes do estudo se beneficiarão do estudo por contarem com um rastreio contínuo das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal durante os três trimestres de gestação, de forma que serão realizados os tratamentos adequados mediante eventuais resultados positivos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa com relevância científica e originalidade atestadas pela prof. Andrea E. M. Strengher.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados. O TCLE deve ser revisado, para acrescentar endereço, telefone e horários em que poderão ser contatados pelas participantes da pesquisa para esclarecer eventuais dúvidas.

Recomendações:

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado para execução assim que novo TCLE seja incluído na PB, com as informações sobre o endereço e horários que as participantes da pesquisa poderão entrar em contato com os pesquisadores - enviar no modo/ferramenta NOTIFICAÇÃO.

Considerações Finais a critério do CEP:

- É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 1.671.475

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_732648.pdf	26/07/2016 15:58:52		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjCEP09062015FINALpospendencias.docx	26/07/2016 15:53:45	Camila Marconi	Aceito
Outros	Respostapendenciasjulho2016.pdf	26/07/2016 15:51:19	Camila Marconi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPrematuridadepospendjulho2016.doc	26/07/2016 15:50:55	Camila Marconi	Aceito
Folha de Rosto	0_FolhaDeRosto.pdf	09/06/2016 10:34:26	Camila Marconi	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 10 de Agosto de 2016

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR **Município:** CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

**PRODUÇÃO ACADÊMICA – ARTIGO CIENTÍFICO PARA SUBMISSÃO NA
REVISTA AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRIC AND GYNECOLOGY**

**Genital tract microbiome in pregnant women with versus without history of
preterm delivery: a prospective cohort study**

Andrade CP¹, Marconi C², Carvalho NS³

¹Carolina Pereira ANDRADE (MD), Graduated Master's Program in Gynecology & Obstetrics and Women's Health, Federal University of Paraná, Curitiba, State of Paraná, Brazil.

²Ms. Camila MARCONI (Ph.D.), Department of Pathology, Federal University of Paraná, Curitiba, State of Paraná, Brazil.

³Newton Sérgio CARVALHO (MD, Ph.D.), Department of Gynecology & Obstetrics, Federal University of Paraná, Curitiba, State of Paraná, Brazil.

Abstract

Background: Infection is the main cause of premature birth, but the impact on premature delivery of species that colonize the vaginal environment (such as *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma* spp) remains unclear. **Objective:** The incidence of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma* spp. in the lower genital tract of pregnant women with versus without history of preterm delivery was evaluated to estimate the pattern of colonization and the relation to the history of preterm delivery. **Study Design:** Prospective cohort study with 24 pregnant women with history of full-term pregnancy and 26 pregnant women with history of prematurity whose endpoint was to assess the colonization pattern of these agents and its relation to the occurrence of preterm delivery with a vaginal/cervical sample collected at the beginning of each trimester of gestation from each patient. All participants answered a questionnaire assessing sociodemographic data, previous diseases, and gynecological and obstetric history, and underwent gynecological examination and collection of samples of vaginal/cervical secretion at each pregnancy trimester during prenatal care. The vaginal/cervical

samples were evaluated for the presence of the microorganisms of interest using real-time polymerase chain reaction (PCR). **Results:** The study included 50 pregnant women with a mean age of 29.4 ± 5.9 years and a mean gestational age of 13.6 ± 4.5 weeks at enrollment. The number of cases positive for the microorganisms of interest among the 28 pregnant women who were followed up was one in the first trimester (3.6%), 12 in the second trimester (42.8%), and 18 in the third trimester (64.3%), with no difference between the groups in the overall assessment or at each trimester (p for all = nonsignificant) but with a difference in the incidence of agents comparing the first with second and third trimester. No significant differences were observed between the groups regarding general characteristics (p for all = nonsignificant). Those with history of premature delivery were younger ($p < 0.001$) and had a greater number of pregnancies ($p = 0.01$). Twenty-eight pregnant women were followed up across all three trimesters, including 15 with history of full-term pregnancy and 13 with history of preterm delivery. The overall number of cases positive for at least one microorganism was 18 (36.0%). A significantly higher positivity rate was observed in the second and third trimesters in both study groups compared with the first trimester ($p < 0.001$). The microorganisms identified in the vaginal environment were *Ureaplasma parvum* (66.6%), *Mycoplasma hominis* (16.7%), and both (16.7%), and the frequency of both these microorganisms was comparable in both groups at each pregnancy trimester (p for all = nonsignificant), but with a difference between the trimesters. Prematurity in the current pregnancy occurred in a single case (6.7%) in a pregnant woman without history of prematurity in the previous pregnancy ($p = 1.00$). **Conclusion:** The most frequently identified microorganism was *Ureaplasma parvum*, and the overall incidence of positive cases including all microorganisms of interest was 36.0%. The microorganisms had a higher positivity rate in the second and third trimesters, and there was no evidence of association between *Ureaplasma parvum* and/or *Mycoplasma hominis* with prematurity.

Keywords: Vaginal microbiome. Preterm delivery. *Ureaplasma parvum*. *Mycoplasma hominis*. Pregnancy.