



## ***Mycoplasma e Ureaplasma* em gestantes HIV- positivas**

*Mycoplasma and Ureaplasma* in HIV-positive pregnant women

*Mycoplasmas y Ureaplasma* en gestantes VIH positivas

Natália Sales Sidrins<sup>1</sup>, Carolina Pereira de Andrade<sup>1</sup>, Keite da Silva Nogueira<sup>2</sup>, Márcia Guimarães da Silva<sup>3</sup>, Edson Gomes Tristão<sup>4</sup>, Newton Sérgio de Carvalho<sup>1,4</sup>, Camila Marconi<sup>1,2</sup>.

### RESUMO

**Objetivo:** Comparar a prevalência cervico-vaginal das espécies de *Mollicutes*: *Mycoplasma genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma parvum* e *U. urealyticum* entre gestantes de acordo com o status de infecção pelo HIV. **Métodos:** Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo que incluiu 29 gestantes HIV-positivas e 34 HIV-negativas. Todas as participantes responderam um questionário para obtenção de dados sociodemográficos e comportamentais. Amostras cervico-vaginais foram coletadas e testadas molecularmente para as quatro espécies de *Mollicutes*. As taxas de prevalência foram comparadas entre os grupos de estudo utilizando o teste exato de Fisher ou qui-quadrado. **Resultados:** A prevalência de *Mollicutes* foi superior em mulheres HIV-positivas (51,7%; n=15) quando comparada com o grupo de gestantes HIV-negativas (12,0%; n=4), (p<0,001). A espécie mais frequentemente detectada foi *U. parvum*, presente em 12 (41,4%) amostras de gestantes HIV-positivas e 2 (6,0%) amostras de gestantes HIV-negativas (p<0,01). A análise longitudinal mostrou que gestantes com HIV tiveram um número maior de momentos positivos para *Mollicutes* quando comparadas às mulheres HIV-negativas (p = 0,01). **Conclusão:** Os dados de prevalência de *Mollicutes* aqui apresentados pode nortear estratégias diagnósticas para tais microrganismos, se clinicamente indicado.

**Palavras-chave:** Gravidez, HIV, Nascimento prematuro, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*.

### ABSTRACT

**Objective:** To compare the cervicovaginal prevalence of the *Mollicutes* species: *Mycoplasma genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma parvum*, and *U. urealyticum* in pregnant women according to HIV infection status. **Methods:** This was a prospective longitudinal study that included 29 HIV-positive and 34 HIV-negative pregnant women. All participants completed a questionnaire to obtain sociodemographic and behavioral data. Cervicovaginal samples were collected and molecularly tested for the four *Mollicutes* species. Prevalence rates were compared between the study groups utilizing Fisher's exact test or Chi-square test. **Results:** The prevalence of *Mollicutes* was superior in HIV-positive participants (51.7%; n=15), when compared to the HIV-negative group (12.0%; n=4), (p<0.001). The most frequently species detected was *U. parvum*, present in 12 (41.4%) samples from HIV-positive pregnant women and 2 (6.0%) HIV-negative participant (p<0.01). The longitudinal analysis showed that pregnant women with HIV had a higher number of positive moments for *Mollicutes* compared to HIV-negative women (p = 0.01). **Conclusion:** The prevalence rates of *Mollicutes* reported in this study may guide new diagnostic strategies for these microorganisms, if clinically indicated.

**Keywords:** Pregnancy, HIV, Preterm birth, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*.

### RESUMEN

**Objetivo:** Comparar la prevalencia cervicovaginal de las especies de *Mollicutes*: *Mycoplasma genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma parvum* y *U. urealyticum* en mujeres embarazadas según el estado de infección por VIH.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba - PR.

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu – SP.

**Métodos:** Este fue un estudio longitudinal prospectivo que incluyó a 29 mujeres embarazadas VIH-positivas y 34 VIH-negativas. Todas las participantes completaron un cuestionario para obtener datos sociodemográficos y de comportamiento. Se recolectaron muestras cervicovaginales y se realizaron pruebas moleculares para las cuatro especies de *Mollicutes*. Las tasas de prevalencia se compararon entre los grupos de estudio utilizando la prueba exacta de Fisher o la prueba de Chi-cuadrado. **Resultados:** La prevalencia de *Mollicutes* fue superior en las participantes VIH-positivas (51,7%; n=15), en comparación con el grupo VIH-negativo (12,0%; n=4), ( $p < 0,001$ ). La especie detectada con mayor frecuencia fue *U. parvum*, presente en 12 (41,4%) muestras de mujeres embarazadas VIH-positivas y en 2 (6,0%) participantes VIH-negativas ( $p < 0,01$ ). El análisis longitudinal mostró que las mujeres embarazadas con VIH tuvieron un mayor número de momentos positivos para *Mollicutes* en comparación con las mujeres VIH-negativas ( $p = 0.01$ ). **Conclusión:** Las tasas de prevalencia de *Mollicutes* reportadas en este estudio pueden guiar nuevas estrategias diagnósticas para estos microorganismos, si se indica clínicamente.

**Palabras clave:** Embarazo, VIH, Parto prematuro, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*.

## INTRODUÇÃO

Vários mecanismos são propostos para a ocorrência do parto prematuro. Estima-se que 25% a 40% dos casos de nascimento prematuro estejam associados a infecções intrauterinas. O mecanismo proposto para a relação entre infecção e nascimento prematuro envolve a rota ascendente de microrganismos do trato genital inferior até as membranas fetais e líquido amniótico. Na cavidade amniótica, a infecção estimula a produção de citocinas inflamatórias e prostaglandinas, desencadeando o trabalho de parto (GÓMEZ-LOPEZ N, et al., 2022). Espécies da classe *Mollicutes*, como *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*, são as mais frequentemente detectadas no líquido amniótico (MARCONI C, et al., 2011) e em amostras cérvico-vaginais de mulheres com corioamnionite, representando 40% dos casos (ALLANSON B, et al., 2010). Entretanto, deve-se ressaltar que o rastreo de tais espécies bacterianas não é atualmente recomendado em mulheres assintomáticas e sem sinais de infecção (HORNER P, et al., 2018; WORKOWSKI KA, et al., 2021).

A maioria das espécies bacterianas envolvidas em infecções intra-amnióticas estão associadas à disbiose vaginal, como a vaginose bacteriana (VB) (MARCONI C, et al., 2011; LIS R, et al., 2015). A definição de VB é frequentemente considerada como a substituição do *Lactobacillus* spp. por outras espécies bacterianas, especialmente anaeróbias estritas ou facultativas (MUZNY CA, et al., 2023). A prevalência da VB varia de 10% a 52% durante a gravidez (NYEMBA DC, et al., 2022; YALEW GT, et al., 2022; GOVENDER L, et al., 1996) e aumentada em mulheres com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (FOESSLEITNER P, et al., 2021). Durante a gravidez, a VB tem sido associada à prematuridade (MOHANTY T, et al., 2023) e quando acompanhada de colonização por *M. hominis* e *U. urealyticum*, o risco de perda gestacional é cinco vezes maior (DONDEERS GG, et al., 2000). Além da maior prevalência de VB, as mulheres com HIV são mais suscetíveis a infecções que afetam o trato genital inferior (MBU ER, et al., 2008), como *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* (GALLO MF, et al., 2012).

A dinâmica temporal da composição da microbiota vaginal é menos variável durante a gravidez, tendendo à dominância de *Lactobacillus* spp. e à menor prevalência de *Mollicutes* quando comparada a mulheres não grávidas (SARAF VS, et al., 2021). Contudo, no contexto da infecção pelo HIV, foi demonstrado que mulheres grávidas com esta infecção apresentam maior prevalência da espécie *M. genitalium* (SMULLIN CP, et al., 2020). Dentre as espécies de *Mollicutes* pesquisadas, a *M. genitalium* é a única reconhecidamente patogênica no trato genital inferior (LIS R, et al., 2015). Como essas espécies possuem genomas pequenos e baixa capacidade biossintética, a detecção de *Mollicutes* é feita preferencialmente por meio de testes moleculares, o que torna sua investigação desafiadora, principalmente em países em desenvolvimento (LELI C, et al., 2018).

Dado a escassez na literatura científica de dados sobre a prevalência de *Mollicutes* durante a gravidez, particularmente em países em desenvolvimento, o objetivo deste estudo foi comparar a dinâmica temporal da prevalência cérvico-vaginal de *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. parvum* e *U. urealyticum*, na ausência de co-infecções do trato genital inferior de acordo com o status do HIV. Deve-se ressaltar que tal conhecimento contribuirá para o melhor entendimento da variabilidade temporal da colonização por *Mollicutes* durante a gravidez e pode orientar o desenvolvimento da melhor estratégia para testar esses agentes se clinicamente indicado.

## MÉTODOS

Este estudo longitudinal foi realizado na região metropolitana de Curitiba, localizada no estado do Paraná, sul do Brasil. A população do estudo foi composta por mulheres participantes de conveniência e consecutivas, com menos de 22 semanas de gestação, que frequentavam os ambulatórios de pré-natal com frequência quinzenal ou semanal, no período entre julho de 2018 a março de 2020. O acompanhamento das gestantes para a finalidade de realização deste estudo foi interrompido após março de 2020 devido às medidas restritivas de acesso adotadas nas unidades de pré-natal durante a pandemia da Covid-19. O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (número do parecer: 2.947.665) e do Setor de Ciências da Universidade Federal do Paraná (número do parecer: 2.697.371), sob Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) números 57341416.3.0000.0102 e 1.671.475/2.545.367, respectivamente.

Todas as gestantes convidadas a participar do estudo foram informadas sobre o objetivo e a metodologia e ao concordarem em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As participantes HIV-positivas foram incluídas no Ambulatório de Pré-Natal de Doenças Infecciosas de Alto Risco, enquanto as participantes HIV-negativas de um serviço de Pré-Natal de Baixo Risco. Para inclusão das participantes foram considerados os seguintes critérios: idade entre 18 a 45 anos, menos de 22 semanas de gestação, abstinência sexual (pelo menos 48 horas antes da coleta), não estar em uso de antimicrobianos (incluindo sulfametoxazol-trimetoprim para gestantes HIV positivas, confirmado por prontuário) e cremes vaginais (pelo menos 30 dias antes da coleta).

A idade gestacional das mulheres foi determinada pela ultrassonografia obstétrica. Todas as participantes do Ambulatório de Pré-Natal de Doenças Infecciosas apresentavam diagnóstico confirmado de HIV e estavam em terapia antirretroviral (TARV). Os critérios de exclusão foram: gravidez gemelar, malformação fetal, hipertensão e diabetes, insuficiência cervical, descolamento prematuro de placenta, placenta prévia, doenças autoimunes, gravidez ectópica, oligo e polidrâmnio, história de trabalho de parto prematuro e ruptura prematura de membranas em gravidez anterior (se HIV negativo). Após a visita em que a inclusão das participantes foi realizada, foram programadas duas visitas para segmento de cada participante para o estudo, dentro do cronograma de visitas de pré-natal previsto no serviço. Para garantir a viabilidade das duas visitas por participante, as amostras foram agendadas para momentos equidistantes até 39 semanas. Foram realizadas duas visitas de segmento, na segunda metade do segundo trimestre e no terceiro trimestre de gestação.

Nos casos em que as participantes não compareceram as visitas às clínicas ou não apresentaram as condições ideais para coleta de amostras para estudo (por exemplo, antibioticoterapia, uso de cremes vaginais, relação sexual recente), as coletas foram reagendadas para a próxima visita de pré-natal prevista para tais participantes. Do total de 90 participantes abordadas, 27 não foram incluídas no estudo: por não aceitarem participar do estudo (n=4), devido a idade gestacional superior a 22 semanas (n=7), apresentarem gestação gemelar (n=2), ou histórico de trabalho de parto prematuro anterior e/ou ruptura prematura de membranas em participantes HIV-negativas (n=14). Portanto, a população do estudo foi composta por 63 gestantes, sendo 29 HIV-positivas e 34 HIV-negativas. Todas as participantes responderam individualmente a um questionário estruturado para obtenção de dados sociodemográficos, informações sobre consumo de substâncias e histórico obstétrico.

Posteriormente, foram submetidas a exame ginecológico para coleta de amostra cérvico-vaginal. Tais procedimentos foram realizados nas três visitas do estudo. O exame ginecológico seguiu os passos descritos a seguir: após a inserção de um espécule estéril e não lubrificado, o pH vaginal foi medido através do contato de uma tira comercial (Merck, pH 4,0-7,0, Darmstadt - Alemanha) com o terço médio da parede vaginal, por 20 segundos. As leituras de pH foram feitas comparando a cor da tira com a escala fornecida pelo fabricante. Utilizando um swab estéril, foram coletadas amostras do terço médio da parede vaginal para preparação de esfregaços vaginais para classificação microscópica da microbiota vaginal segundo Nugent RP, et al. (1991) e para critérios e detecção de morfotipos compatíveis com leveduras, pseudo-hifas ou hifas de *Candida* spp. Por fim, amostras da região ectocervical foram obtidas por meio de escovas cervicais que foram armazenadas

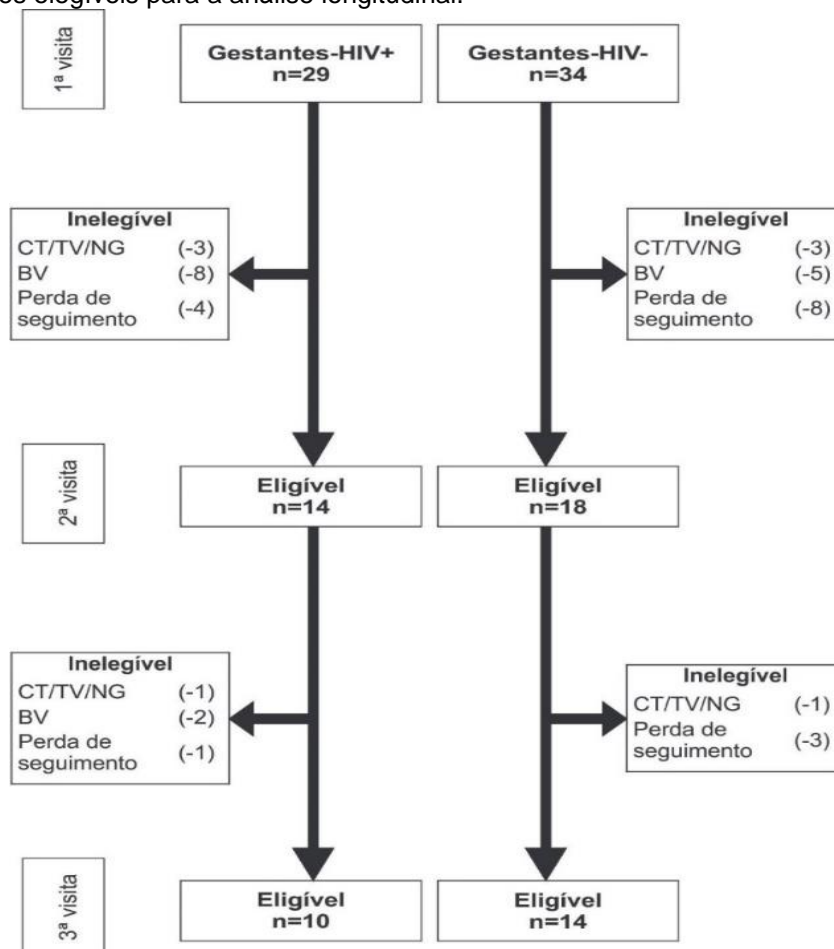
em solução conservadora de DNA a -20°C até o processamento. As amostras foram então submetidas à extração total de DNA utilizando o Kit Biopur Mini Spin Plus (Mobius, Pinhais -PR), seguindo as instruções do fabricante, com etapa final de eluição em 50 µL. A detecção de *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. parvum* e *U. urealyticum* foi realizada utilizando um kit comercial de PCR em tempo real (XGEN MULTI UP, Mobius, Pinhais /PR, Brasil).

O painel do kit comercial também incluiu a detecção de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* e *T. vaginalis*, sendo os casos positivos tratados de acordo com as orientações do Ministério da Saúde do Brasil (2015) e protocolo do HC-UFPR. As análises estatísticas para comparação das variáveis do estudo entre os grupos de estudo com base no status sorológico do HIV foram realizadas por meio do teste de Mann-Whitney para variáveis não paramétricas contínuas, teste T para variáveis paramétricas contínuas e teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher para variáveis categóricas. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. O software utilizado para todas as análises foi o GraphPad Prism (versão 6.0, GraphPad Software, San Diego, CA).

## RESULTADOS

Do total de 63 participantes incluídas, 32 retornaram para o segundo follow-up e 24 retornaram para o terceiro follow-up para o estudo, sendo, portanto, incluídas na análise longitudinal (**Figura 1**). Os motivos de exclusão do estudo longitudinal incluíram perda de seguimento (a participante não compareceu às consultas agendadas na idade gestacional indicada para os momentos do estudo) e positividade em qualquer momento do estudo para *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* e VB, dada a necessidade de antibioticoterapia que pode alterar o status de positividade dos *Mollicutes*, conforme detalhado na (**Figura 1**).

**Figura 1-** Gestantes elegíveis para a análise longitudinal.



Fonte: Sidrins NS, et al., 2024.

Os dados sociodemográficos e comportamentais observados no momento da inclusão no estudo para as 63 participantes estão detalhados na **Tabela 1**. Não foram observadas diferenças estatísticas para a maioria das variáveis estudadas entre os dois grupos, exceto para o tabagismo, que foi mais frequente no grupo de gestantes com HIV ( $p=0,03$ ).

**Tabela 1-** Características sociodemográficas e comportamentais dos participantes do estudo, de acordo com o grupo de estudo definido pelo status positivo para HIV.

Características	HIV-positivas (n=29)	HIV-negativas (n=34)	Valor de P*
<b>Idade (anos), mediana (mín-máx)</b>	<b>28 (20 – 41)</b>	<b>30.5 (18 – 41)</b>	<b>0,31<sup>a</sup></b>
<b>Etnia</b>			<b>0,82<sup>b</sup></b>
Afro-americana	11 (37,9%)	12 (35,3%)	-
Caucasiana/branca	18 (62,1%)	22 (64,7%)	-
<b>Vive com parceria</b>			<b>0,65<sup>d</sup></b>
Não	3 (10,3%)	2 (5,9%)	-
Sim	26 (89,7%)	32 (94,1%)	-
<b>Exerce trabalho remunerado</b>			<b>0,92<sup>b</sup></b>
Não	14 (48,27%)	16 (47,0%)	-
Sim	15 (51,72%)	18 (53,0%)	-
<b>Renda per capita<sup>e</sup>, média ± dp</b>	<b>700 ± 467,4</b>	<b>1131.4 ± 767,5</b>	<b>0,11<sup>a</sup></b>
<b>Tabagismo</b>			<b>0,03<sup>d</sup></b>
Não	20 (69,0%)	32 (94,0%)	-
Sim <sup>f</sup>	9 (31,0%)	2 (6,0%)	-
<b>Consumo de álcool</b>			<b>0,40<sup>d</sup></b>
Não	25 (86,2%)	32 (94,0%)	-
Sim	4 (13,8)	2 (6,0%)	-
<b>Uso de drogas</b>			<b>nc</b>
Não	28 (96,5%)	34 (100,0%)	-
Sim	1 (3,5%)	0 (0,0%)	-

**Legenda:** \* $p<0,05$  considerado significativo; <sup>a</sup> Teste não paramétrico de Mann-Whitney; <sup>b</sup> Teste Qui-Quadrado; <sup>c</sup> T-teste; <sup>d</sup> Teste exato de Fisher. <sup>e</sup> O valor é obtido dividindo-se a renda familiar total pelo número de pessoas que vivem dessa renda; Min= valor mínimo encontrado; Max= valor máximo encontrado; dp: desvio padrão; nc: não calculado. <sup>f</sup> “fumar no último ano”.

**Fonte:** Sidrins NS, et al., 2024.

Todas as participantes com HIV estavam em terapia antirretroviral (TARV) e apresentavam controle clínico adequado da infecção viral. Dentre as 29 gestantes HIV-positivas incluídas, 20 (69,0%) apresentavam carga viral de HIV indetectável e 9 (31,0%) apresentavam carga viral abaixo de 1.000 cópias/mL. A contagem de células CD4+ dos participantes HIV-positivas mostrou que 2 (6,89%) delas tiveram resultados abaixo de 200 células/  $\mu\text{L}$ , 11 gestantes (37,93%) tiveram contagens de linfócitos T CD4+ entre 200 e 500 células/  $\mu\text{L}$  e 16 mulheres (55,17%) apresentavam contagens acima de 500 células/  $\mu\text{L}$ .

Em relação às gestantes com carga viral indetectável, 13 apresentavam contagens de células CD4+ acima de 500 células/  $\mu\text{L}$  e 3 apresentavam contagens entre 200 e 500 células/  $\mu\text{L}$ . A **Tabela 2** mostra as características clínicas das participantes no momento da inclusão no estudo. Em relação à idade gestacional, as gestantes HIV-positivas apresentaram idade gestacional média de 13 semanas e 2 dias, enquanto as gestantes HIV-negativas tinham idade gestacional média de 12 semanas e 1 dia, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,29$ ).

A idade gestacional na segunda visita das 32 participantes que compareceram nesse momento do estudo, a mediana foi de 30 semanas e 5 dias no grupo HIV-positivo e de 25 semanas no grupo HIV-negativo. Finalmente, no momento da terceira visita, a idade gestacional média foi de 36 semanas e 4 dias nas mulheres HIV-positivas e de 34 semanas e 2 dias nas mulheres HIV-negativas. A **Tabela 2** apresenta os valores de pH vaginal aferidos no momento da inclusão das participantes, sendo que o grupo de gestantes HIV-positivas apresentou valores significativamente maiores quando comparado ao grupo HIV-negativo ( $p<0,001$ ). Apesar da maior taxa de prevalência de VB entre mulheres HIV-positivas (31,0%) quando comparadas às HIV-

negativas (16,7%), não houve diferença estatisticamente significativa para tal prevalência ( $p=0,16$ ). Não houve diferença estatística em relação à positividade para a detecção microscópica dos morfotipos de *Candida* spp. nos esfregaços vaginais.

**Tabela 2-** Características clínicas dos participantes no momento da inclusão no estudo, de acordo com o grupo de estudo definido pelo status positivo para HIV.

Características	HIV-positivas (n=29)	HIV-negativas (n=34)	Valor de P*
<b>Idade gestacional (s=semanas e d=dias)</b>	<b>13s2d (7s4d – 22s)</b>	<b>12s1 (6s – 19s5d)</b>	<b>0,29<sup>a</sup></b>
<b>Queixa de corrimento anormal</b>			<b>0,33<sup>b</sup></b>
Não	19 (65,5%)	26 (76,5%)	-
Sim	10 (34,5%)	8 (23,5%)	
<b>Queixa de mau odor genital</b>			<b>0,67<sup>d</sup></b>
Não	27 (93,1%)	30 (85,4%)	-
Sim	2 (6,9%)	4 (14,6%)	
<b>Queixa de prurido genital</b>			<b>nc</b>
Não	26 (89,7%)	34 (100,0%)	-
Sim	3 (10,3%)	0 (0,0%)	
<b>pH vaginal, mediana (mín-máx)</b>	<b>4,7 (4,0-7,0)</b>	<b>4,0 (4,0-5,0)</b>	<b>&lt;0,001<sup>a</sup></b>
<b>Classificação microscópica da microbiota vaginal<sup>e</sup></b>			<b>0,16<sup>d</sup></b>
Normal	18 (62,0%)	28 (82,4%)	-
Intermediária	2 (7,0%)	0 (0,0%)	
Vaginose bacteriana	9 (31,0%)	6 (16,7%)	
<b>Presença de <i>Candida</i> sp. por microscopia</b>			<b>1,00<sup>d</sup></b>
Não	28 (96,5%)	32 (94,1%)	-
Sim	1 (3,4%)	2 (5,9%)	
<b>Infecção cérvico-vaginal</b>			<b>1,00<sup>d</sup></b>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2 (6,9%)	3 (8,8%)	-
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 (3,4%)	0 (0,0%)	nc
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	nc

**Legenda:** <sup>†</sup> $p<0,05$  considerado significativo; <sup>a</sup> Teste não paramétrico de Mann-Whitney; <sup>b</sup> Teste Qui-Quadrado; <sup>c</sup>T-teste; <sup>d</sup> Teste exato de Fisher; TGI; nc: não calculado. Min= valor mínimo encontrado; Max= valor máximo encontrado <sup>e</sup>Segundo os critérios de Nugent RP, et al. (1991)<sup>19</sup> Os dois casos de VB intermediária não foram considerados, apenas foram incluídos os casos de microbiota vaginal normal e VB.

**Fonte:** Sidrins NS, et al., 2024.

Os resultados dos testes moleculares para presença de espécies de *Mollicutes* de interesse da pesquisa estão detalhados na (Tabela 3). Observa-se que do total de quatro espécies alvo, a mais frequente foi *U. parvum* (n = 14, 22,2%), seguido por *M. hominis* (n = 5; 8,0%) e *M. genitalium* (n = 4; 6,3%). Nenhuma das gestantes testou positivo para *U. urealyticum*. Sete participantes (11,1%) testaram positivo para dois ou mais dos microrganismos investigados no momento da inclusão no estudo. A prevalência de *U. parvum* foi estatisticamente maior entre as participantes HIV-positivas (n = 12; 41,4%), quando comparado às HIV-negativas (n = 2; 6,0%).

**Tabela 3-** Prevalência de *M. genitalium*, *M. hominis* e *U. parvum* em amostras cérvico-vaginais no momento da inclusão no estudo, de acordo com o grupo de estudo definido pelo status da infecção pelo HIV.

Características	HIV-positivas (n=29)	HIV-negativas (n=34)	Valor de P*
<b>Positividade para qualquer espécie</b>			
Sim	15 (51,7%)	4 (12,0%)	<0,001
Não	14 (48,3%)	30 (88,0%)	
<b><i>Mycoplasma genitalium</i></b>			
Sim	3 (10,3%)	1 (3,0%)	0,32
Não	26 (89,7)	33 (97,0%)	
<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>			

Sim	3 (10,3%)	2 (6,0%)	0,65
Não	26 (89,7%)	32 (94,0%)	
<b>Ureaplasma parvum</b>			
Sim	12 (41,4%)	2 (6,0%)	<0,01
Não	17 (58,6%)	32 (94,0%)	

**Legenda:**  $\hat{p} < 0,05$  considerado significativo pelo Teste exato de Fischer. O número total de microorganismos detectados difere da positividade geral para infecção, já que algumas amostras testaram positivo para mais de um micro-organismo. Três amostras testaram positivo para mais de um micro-organismo. No grupo HIV-negativo: *M. genitalium* e *M. hominis* (n=1). No grupo HIV-positivo: *M. genitalium* e *U. parvum* (n=1); *M. hominis* e *U. parvum* (n=1); \**U. urealyticum* não foi detectado em nenhum dos participantes.

**Fonte:** Sidrins NS, et al., 2024.

Dos 63 participantes do estudo, 24 foram avaliadas em três momentos do estudo para a investigação longitudinal de *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. parvum* e *U. urealyticum*, sendo que destas, 10 pertenciam ao grupo de gestantes HIV-positivas e 14 de HIV-negativas (**Figura 2**). A análise longitudinal (**Figura 2**) mostrou que das 30 coletas realizadas em participantes HIV-positivas, a positividade para *Mollicutes* foi observada em 16 (53,0%) amostras. Em contrapartida, das 42 coletas realizadas pelas participantes HIV-negativas, as espécies-alvo foram detectadas em apenas 10 (23,8%) momentos de visitas ( $p = 0,01$ ).

Os valores de prevalência dos microrganismos-alvo aumentaram em ambos os grupos durante a progressão do período gestacional. Em média, *U. parvum* foi a espécie mais comum detectada entre os três organismos testados nos três momentos. Ao comparar os dois grupos longitudinalmente, a prevalência de *U. parvum* (n=15; 50,0%) foi maior na presença de HIV ( $p < 0,05$ ) em comparação as HIV-negativas (n=10; 23,8%). O segundo organismo mais comumente detectado em ambos os grupos foi *M. hominis*, presente em (n = 4; 5,0%) das mulheres nos três momentos. A espécie *M. genitalium* não foi detectada em nenhuma das participantes avaliadas longitudinalmente (**Figura 2**).

**Figura 2-** Análise longitudinal das espécies de *Mollicutes* detectadas, *M. hominis*, *U. parvum*, durante a gravidez nas 24 participantes incluídas na análise longitudinal, de acordo com o status de infecção pelo HIV.

	1hiv+	2hiv+	3hiv+	4hiv+	5hiv+	6hiv+	7hiv+	8hiv+	9hiv+	10hiv+	1hiv-	2hiv-	3hiv-	4hiv-	5hiv-	6hiv-	7hiv-	8hiv-	9hiv-	10hiv-	11hiv-	12hiv-	13hiv-	14hiv-	
1v	Up		Up		Up	Up	Up																		
2v	Up	Up	Up					Mh, Up			Up					Up				Up				Up	
3v	Up		Up	Mh	Up	Up		Up	Up		Up	Up			Up	Mh, Up				Up				Mh, Up	

**Legenda:** 1v = primeira visita; 2v = segunda visita; 3v = terceira visita; HIV = vírus da imunodeficiência humana; Mh = *Mycoplasma hominis*; Up = *Ureaplasma parvum*.

**Fonte:** Sidrins NS, et al., 2024.

## DISCUSSÃO

As infecções do trato genital inferior e as alterações de microbiota vaginal apresentam repercussões indesejáveis para o desfecho gestacional, uma vez que são associadas à prematuridade advinda da rotura prematura de membranas pré-termo e trabalho de parto prematuro (GOLDENBERG RL, et al., 2008; GÓMEZ-LOPEZ N, et al., 2022). Nesse contexto, algumas espécies da classe *Mollicutes* que são detectadas no trato genital inferior tem sido associada a infecções intra-amnióticas e mau desfecho gestacional (MARCONI C, et al., 2011; LIS R, et al., 2015).

Apesar de tal associação, o rastreio de *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. em gestantes assintomáticas e sem sinais de infecção não é recomendado durante o Pré-Natal, entre outros motivos, pelo importante aumento da resistência de tais micro-organismos aos antimicrobianos, utilizados na terapêutica (HORNER P, et al., 2018; WORKOWSKI KA, et al., 2021). Portanto, dados epidemiológicos relativos a prevalência de *Mycoplasma* spp. e *Ureaplasma* spp. são escassos na população, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil onde há baixa disponibilidade de testes moleculares utilizados para a

detecção desses micro-organismos. Neste cenário, os deste estudo demonstram que há uma maior colonização pelas espécies de *Mollicutes* pesquisadas em gestantes HIV-positivas. Além disso, os dados longitudinais aqui apresentados apontam para uma grande variação temporal da positividade para tais micro-organismos durante a gestação mesmo na presença de uma microbiota vaginal normal. Em relação às variáveis sociodemográficas e de consumo, a população estudada foi homogênea entre os grupos de gestantes HIV-positivas e HIV-negativas, não sendo observadas diferenças significativas na maioria das características estudadas. Dessa forma, este estudo permitiu comparar a presença e dinâmica dos *Mollicutes* cérvico-vaginais em duas populações sócio-demograficamente similares, diferindo quanto ao *status* de infecção pelo HIV.

Com a finalidade de evitar possíveis vieses na detecção das espécies-alvo do estudo, foram excluídas as participantes com condições que pudessem interferir na composição da microbiota vaginal, como o uso de antibióticos (incluindo sulfametazol-trimetropina para as gestantes com HIV) e o controle clínico inadequado da infecção pelo HIV, conforme evidenciado pelos indicadores laboratoriais de contagem de células T CD4+ e carga viral plasmática do HIV apresentados. Embora escassos, alguns estudos já foram realizados para pesquisar a prevalência de espécies de *Mycoplasma* e *Ureaplasma* na população brasileira (CHRISTOFOLINI DM, et al, 2012; LOBÃO TN, et al., 2017; MATOS MS, et al., 2024). Os achados deste estudo revelam que a espécie mais frequente foi a *U. parvum*, com taxa de positividade de 41,4% em participantes HIV-positivas. Tal prevalência encontrada é maior do que um estudo brasileiro que avaliou populações de mulheres HIV-negativas e não grávidas (CARNEIRO FP, et al, 2020).

Entretanto, a prevalência aqui reportada para *U. parvum* é ainda inferior a outros estudos brasileiros realizados em uma população de mulheres sexualmente ativas e HIV-negativas (LOBÃO TN, et al., 2017) e em mulheres que sofreram aborto espontâneo (OLIVEIRA CNT, et al., 2021). O segundo micro-organismo mais frequente foi o *M. hominis* com prevalência de 10,3% nas participantes HIV-positivas. Resultados semelhantes aos de outros estudos realizados nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil com mulheres não-gestantes e HIV-negativas (CHRISTOFOLINI DM, et al, 2012; CARNEIRO FP, et al, 2020). A espécie de *M. genitalium* também apresentou positividade de 10,3% no grupo de gestantes HIV-positivas. Em contraste com outros estudos brasileiros que encontraram taxas menores em mulheres em idade reprodutiva sem queixas ginecológicas e em gestantes HIV-positivas (CHRISTOFOLINI DM, et al, 2012; TRAVASSOS AGA, et al., 2012).

Taxas maiores de positividade de *M. genitalium* foram mencionadas em outros estudos com mulheres HIV-negativas assintomáticas (LIMA LM, et al., 2018) e mulheres que sofreram aborto espontâneo (OLIVEIRA CNT, et al., 2021). Por fim, houve a ausência da positividade para o micro-organismo *U. urealyticum* na população desse estudo. Linhares IM, et al. (2000) encontraram uma taxa de positividade de *U. urealyticum* de 69,1% em mulheres HIV-positivas não tratadas para o HIV. De fato, há uma grande variação na prevalência de *Mollicutes* em diferentes populações, pois já foi demonstrado que a positividade para tais micro-organismos pode ser influenciada por fatores como idade, condições socioeconômicas, atividade sexual, número de parceiros e estilo de vida da população estudada (RUZMAN N, et al., 2013; TIBALDI C, et al., 2016; SILVA J, et al., 2018)

Considerando que fatores intrínsecos relacionados à natureza da infecção pelo HIV podem afetar a vulnerabilidade do sistema imunológico em gestantes, a relação entre o hospedeiro e a composição de sua microbiota pode ser impactada por tal infecção (TUDDENHAM S, et al., 2023). Neste estudo, verificou-se um aumento significativo nos valores de pH vaginal em gestantes HIV-positivas em relação às HIV-negativas, indicando uma possível diferença na composição da microbiota vaginal. Tais achados relativos ao aumento do pH vaginal mais altos encontrados nas gestantes HIV-positivas dessa pesquisa estão em concordância com outros estudos realizados com mulheres portadoras desta infecção (FOESSLEITNER P, et al., 2021, TUDDENHAM S, et al., 2023).

Os *Lactobacillus* spp. são os responsáveis pela manutenção do pH ácido vaginal, uma vez que produzem ácido lático a partir da fermentação da glicose originada do glicogênio armazenado nas células epiteliais vaginais (MARSCHALKÓ M e AMBRUS L, 2023). Entretanto, embora este estudo tenha encontrado um pH



vaginal elevado nas gestantes HIV-positivas, não houve diferença estatisticamente significativa nos achados microscópicos da avaliação da microbiota vaginal. Apesar da prevalência de VB (condição em que há depleção de *Lactobacillus*) ter sido superior nas pacientes com HIV, ela não diferiu estatisticamente das HIV-negativas. Ainda que este estudo tenha utilizado os critérios de Nugent para a avaliação microscópica da microbiota vaginal, que é o método que melhor se correlaciona com os achados moleculares, é importante considerar as limitações da microscopia na identificação da comunidade bacteriana local, que só pode ser acessada com precisão molecularmente (DURSKI M, et al., 2022).

Embora haja associação entre VB e espécies de *Mollicutes* (EROGLU S e ASGIN N, 2022), encontramos uma alta positividade nas participantes que apresentaram microbiota vaginal normal na análise longitudinal. Estudo anterior conseguiu demonstrar longitudinalmente que mulheres grávidas apresentam maior estabilidade na composição da microbiota vaginal e menor frequência de VB em comparação com mulheres não grávidas (ROMERO R, et al., 2014). Nosso estudo que incluiu mulheres HIV-positivas mostrou a dinâmica temporal das espécies de interesse ao longo da gravidez e um aumento na prevalência geral de micro-organismos da família *Mollicutes*. O estudo apresenta limitações, incluindo um tamanho amostral limitado devido à suspensão das atividades e da coleta de dados durante a pandemia da COVID-19. Outra limitação é o uso da PCR multiplex, que pode ser menos sensível que a PCR de alvo único (CHANG-HUI S, 2023). Contudo, vale ressaltar que a população estudada foi homogênea e analisada longitudinalmente. Além disso, os resultados da colonização por *Mollicutes* não foram influenciados pelo uso concomitante de medicamentos antimicrobianos, uma vez que foram excluídas coinfeções (por exemplo, BV, *C. trachomatis*, etc).

## CONCLUSÃO

Os dados deste estudo acrescentam à literatura a prevalência da colonização por *Mollicutes* que é pouco investigada no Brasil e em outros países em desenvolvimento. Os resultados de prevalência da infecção cervical por *Mycoplasma spp.* e *Ureaplasma spp.* aqui apresentados aumentam nossa compreensão da presença desses micro-organismos no trato genital ao longo da gravidez em mulheres com HIV, o que pode orientar o desenvolvimento de estratégias de teste otimizadas para testagem desses micro-organismos quando clinicamente indicado. Foi demonstrado que existe uma maior prevalência de espécies de *Mollicutes* entre mulheres grávidas HIV-positivas, porém não há associação da positividade para tais micro-organismos com o padrão da microbiota vaginal. Além disso, deve-se apontar para grande flutuação encontrada da positividade para espécies-alvo do estudo no curso gestacional de mulheres com microbiota vaginal normal, com predomínio de *Lactobacillus spp.*, achado que deve ser considerado durante o manejo clínico durante o Pré-Natal.

## FINANCIAMENTO E AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio de doações de kits para detecção de *Mollicutes* pela Mobius Life Science, Pinhais/PR (número de concessão: não se aplica) e os demais insumos foram adquiridos pelo Edital 04-2019 Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Paraná (PRPPG/UFPR), pela Associação dos Amigos do Complexo Hospital de Clínicas da UFPR Edital de Chamamento de Projetos 2019 e recursos próprios dos pesquisadores. Os kits para detecção de *Mollicutes* foram doados pela Mobius Life Science, Pinhais /PR e os demais insumos foram adquiridos pelo Edital 04-2019 Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Paraná (PRPPG/UFPR), pela Associação dos Amigos do Complexo Hospital de Clínicas da UFPR Edital de Chamamento de Projetos 2019 e recursos próprios dos pesquisadores.

## REFERÊNCIAS

1. ALLANSON B, et al. Infection and foetal loss in the mid-second trimester of pregnancy. Aust NZJ Obstet Ginecol. 2010; 50: 221–5.
2. BOUJEMAA S, et al. Association between genital mycoplasmas (*Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*) and HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *Aids reviews*. 2023; 25: 1-10.
3. BRAZIL. Ministry of Health. Department of Health Surveillance. Department of STDs, AIDS, and Viral Hepatitis. Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Comprehensive Care for People with Sexually Transmitted Infections /

- Ministry of Health, Department of Health Surveillance, Department of STDs, AIDS, and Viral Hepatitis. – Brasília: Ministry of Health, 2015; 120: 55-61.
4. CARNEIRO FP, et al. Cervical Cytology of Samples with *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Neisseria gonorrhoeae* Detected by Multiplex PCR. *Biomed Res Int*. 2020; 7045217.
  5. CHANG-HUI S. Chapter 10 - Amplification of nucleic acids, Editor(s): Chang-Hui Shen, *Diagnostic Molecular Biology (Second Edition)*, Academic Press, 2023; 259-293.
  6. CHRISTOFOLINI DM, et al. Prevalence of cases of *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* and *Chlamydia trachomatis* in women with no gynecologic complaints. *Reprod Med Biol*. 2012; 11(4): 201-205.
  7. DJIGMA F, et al. HIV-infected women of Burkina Faso: a “reservoir” of mycoplasma infection. *J Infect Dev Ctries*. 2011; 5: 176-8.
  8. DONDEERS GG, et al. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynaecol*. 2000; 183: 431-7.
  9. DURSKEI M, et al. Comparison of two microscopic interpretations of vaginal microbiota with molecular profiling. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2022; 104: 115728.
  10. EROGLU S, ASGIN N. Bacterial vaginosis and Mycoplasma infections in reproductive-age women: Clarifying the association with risk factors, *Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia*. 2022; 49(4).
  11. FOESSELEITNER P, et al. HIV infection as a risk factor for vaginal dysbiosis, bacterial vaginosis, and candidosis in pregnancy: A matched case-control study. *Birth*. 2021; 48(1): 139-146.
  12. GALLO MF, et al. Bacterial vaginosis, gonorrhea, and chlamydial infection among women attending a sexually transmitted disease clinic: a longitudinal analysis of possible causal links. *Ann Epidemiol*. 2012; 22: 213-20.
  13. GOLDENBERG RL, et al. Epidemiologia e causas de nascimento prematuro. *Lancet*. 2008; 371: 75 -84.
  14. GÓMEZ-LOPEZ N, et al. A imunobiologia do trabalho de parto e nascimento pré-termo: inflamação intra-amniótica ou quebra da homeostase materno-fetal. *Reprodução*. 2022; 164(2): R11-R45.
  15. GOVENDER L, et al. Bacterial vaginosis and associated infections in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*. 1996; 55: 23-28.
  16. HORNER P, et al. Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? - a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018; 32(11): 1845-1851.
  17. LARSEN B, HWANG J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma* and Adverse Pregnancy Outcomes: A fresh Look. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2010; 52: 521921.
  18. LIMA LM, et al. Sexually Transmitted Infections Detected by Multiplex Real Time PCR in Asymptomatic Women and Association with Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2018; 40(9): 540-546.
  19. LINHARES IM, et al. *Ureaplasma urealyticum* colonization in the vaginal introitus and cervix of human immunodeficiency virus-infected women. *Int J STD AIDS*. 2000; 11(3): 176-9.
  20. LIS R, et al. *Mycoplasma genitalium* Infection and Female Reproductive Tract Disease: A Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases Advance*. 2015; 61: 418-26.
  21. LOBÃO TN, et al. *Ureaplasma urealyticum* e *U. parvum* em mulheres sexualmente ativas atendidas em postos de saúde públicos no Brasil. *Epidemiol Infect*. 2017; 145: 2341-235.
  22. MARCONI C, et al. Líquido amniótico Interleucina-1 beta e interleucina-6, mas não interleucina-8, correlacionam-se com a invasão microbiana da cavidade amniótica no trabalho de parto prematuro. *Jornal Americano de Imunologia Reprodutiva*. 2011; 65: 549-556.
  23. MARSCHALKÓ M, AMBRUS L. A nő alsó genitális traktus mikrobiom tulajdonságai és szerepe [Characteristics and physiologic role of female lower genital microbiome]. *Orv Hetil*. 2023; 164(24): 923-930.
  24. MATOS MS, et al. Clinical and uterine cervix characteristics of women with *Mycoplasma* and *Ureaplasma* in genital discharge. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2024; 70(6): 20240045.
  25. MBU ER, et al. “Gynecological morbidity between HIV Positive Pregnant Women in Cameroon,” *Reproductive Health*. 2008; 5: 1-5.
  26. MOHANTY T, et al. Effect of bacterial vaginosis on preterm birth: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2023 Oct;308(4):1247-1255. doi: 10.1007/s00404-022-06817-5. Epub 2022; 36251068.
  27. MUZNY CA, et al. State of the Art for Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *J Clin Microbiol*. 2023; 61(8): 0083722.
  28. NUGENT RP, et al. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991; 29(2): 297-301.
  29. NYEMBA DC, et al. Prevalence of curable STIs and bacterial vaginosis during pregnancy in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2022; 98(7): 484-491.

30. OLIVEIRA CNT, et al. Associação de aborto espontâneo e *Ureaplasma parvum* detectado no tecido placentário. *Epidemiologia e Infecção*. 2020; 148: 126.
31. PENNA IA, et al. Frequência de infecção pelo *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* em mulheres inférteis e relação com repercussões clínicas. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2005; 27(2): 64-8.
32. RUZMAN N, et al. The prevalence and the risk factors of the cervical colonization by the genital mycoplasmas among pregnant women from Eastern Croatia. *Coll Antropol.* 2013; 37(1): 135-40.
33. SARAF VS, et al. Microbioma vaginal: normalidade vs disbiose. *Arco Microbiol.* setembro de 2021; 203(7): 3793-3802.
34. SILVA J, et al. Genital mycoplasmas and ureaplasmas in cervicovaginal self-collected samples of reproductive-age women: prevalence and risk factors. *International Journal of STD & AIDS*. 2018; 29(10): 999-1006.
35. SMULLIN CP, et al. Prevalence and incidence of *Mycoplasma genitalium* in a cohort of HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women in Cape Town, South Africa. *Sex Transm Infect.* 2020; 96(7): 501-508.
36. TIBALDI C, et al. Maternal risk factors for abnormal vaginal flora during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 2016; 133(1): 89-93.
37. TRAVASSOS AGA et al. Prevalence of sexually transmitted infections among HIV-infected women in Brazil, The Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2012; 16(6): 581-585.
38. TUDDENHAM S, et al. Association of Pregnancy and HIV Status With Molecular-Bacterial Vaginosis in Indian Women. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2023; 93(5): 422-430.
39. WORKOWSKI KA, et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep.* 2021; 70(4): 1-192.
40. YALEW GT, et al. Prevalence of bacterial vaginosis and aerobic vaginitis and their associated risk factors among pregnant women from northern Ethiopia: A cross-sectional study. *PLoS One.* 2022; 17(2): 0262692.