

INFEÇÃO GENITAL FEMININA POR *MYCOPLASMA HOMINIS* E *UREAPLASMA UREALYTICUM* E SUA RELAÇÃO COM A GRAVIDEZ E A INFEÇÃO PELO HIV-1

ALCYONE A. MACHADO¹, GERALDO DUARTE¹, SILVANA M. QUINTANA²,
MARINA C. PASCHOINI², ANDRÉA BUENO³, ELUCIR GIR⁴, RITA A.S. CARDOSO⁵

RESUMO

INTRODUÇÃO: Atualmente tem sido realçado o papel da infecção genital feminina por *Mycoplasma hominis* (MH) e *Ureaplasma urealyticum* (UU) na gênese das complicações sistêmicas que extrapolam a singularidade da infecção. A possibilidade de troca de material genético com a célula acometida sustenta um papel na gênese das doenças do conjuntivo e na formação de super-antígenos piorando o prognóstico de mulheres contaminadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1).

OBJETIVOS: Avaliar a frequência da infecção genital do MH e UU em mulheres, considerando o estado de portadora do HIV-1 e gestação.

CASUÍSTICA E MÉTODOS: Estudo prospectivo envolvendo 183 mulheres atendidas em um Hospital Universitário entre 1995 e 1996. Dividiu-se as pacientes do estudo em quatro grupos. O grupo I foi formado por 61 gestantes consideradas normais, o grupo II por 12 gestantes portadoras do HIV-1, o grupo III por 60

mulheres não gestantes portadoras do HIV-1 e o grupo IV por 50 mulheres não gestantes e não contaminadas pelo HIV-1. O método utilizado para identificação do MH e UU foi cultura com diluições sucessivas, considerando positivo as diluições maiores que 10^3 após a mudança de cor dos meios de cultura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Observou-se que as taxas de infecção genital pelo MH e UU são baixas na população feminina, independentemente de sua condição de portadora do HIV-1. Verificou-se que no período gestacional a frequência de MH foi estatisticamente mais baixa (1,4 %) do que na população não gestante (12,7%). Não se observou influência gestacional sobre a frequência do UU.

Sugere-se a todos que tenham condições de cultivo para estes microrganismos que o executem.

Unitermos: *Mycoplasma*, HIV, AIDS, gestação, *M. hominis*, *U. urealyticum*.

SUMMARY

INTRODUCTION: Emphasis is being currently placed on the role of female genital infection with *Mycoplasma hominis* (MH) and *Ureaplasma urealyticum* (UU) in the genesis of systemic complications that extrapolate the singularity of infection. The possibility of the exchange of genetic material with the affected cell supports the idea of a role in the genesis of connective tissue disease and in the formation of superantigens, with a consequent worse prognosis for women contaminated with the human immunodeficiency virus (HIV-1).

OBJECTIVES: To evaluate the frequency of genital infection with MH and MU in women, considering the status of being infected with the HIV-1 virus and pregnancy.

1 - Professores Doutores da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

2 - Médicas assistentes e pós-graduandas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRPUSP).

3 - Médica Residente do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

4 - Professora Doutora da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

5 - Bióloga do Laboratório de Microbiologia do HCFMRPUSP.

Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRPUSP).

Em nosso meio, são raras as informações sobre a infecção genital pelo Mycoplasma em mulheres.

CASES AND METHODS: A prospective study involving 183 women seen at the University Hospital, between 1995 and 1996. The patients were divided into four groups. Group I consisted of 61 pregnant women considered to be normal, group II of 12 pregnant women considered to be infected with HIV-1, group III of 60 non-pregnant women with HIV-1 infection, and group IV of 50 nonpregnant women not infected with HIV-1. MH and UU were identified by culture with successive dilutions, and dilutions higher than 10^3 after color change in the tissue culture were considered to be positive.

RESULTS AND DISCUSSION: We observed that the rate of genital infection with MH and UU is low in the female population, regardless of the condition of being infected with HIV-1. We noted that the frequency of MH was significantly lower during the gestational period (1.4 %) compared to the nonpregnant population (12.7 %). Pregnancy had no effect on UU frequency. We suggest that when culture conditions are available these microorganisms should be cultured.

Key words: Mycoplasma, HIV, AIDS, pregnancy, *M. hominis*, *U. urealyticum*

INTRODUÇÃO

Tanto o *Mycoplasma hominis* (MH) como o *Ureaplasma urealyticum* (UU) pertencem à família *Mycoplasmataceae* e são considerados os menores microrganismos de vida livre da natureza^{16,17}. Em decorrência de suas minúsculas dimensões, inicialmente foram confundidos com vírus, mas o fato de crescerem em meios artificiais os distingue dos agentes virais^{2, 3, 22}.

O MH e o UU são encontrados nas secreções urogenitais, sendo implicados na gênese da doença inflamatória pélvica, acarretando danos tubários irreversíveis, muco cervical inóspito e alterações endometriais que prejudicam o processo da nidação^{4, 11, 12, 15, 20}. A recuperação desses microrganismos em pulmões, cérebro e fígado de embriões e natimortos sugere que também possa haver acometimento intra-uterino do conceito^{5, 8, 9}.

Segundo Minkoff¹³, o MH e o UU contribuem de forma incontestável na gênese da prematuridade e do retardo de crescimento intra-útero. Para outros, a aminionite seria a principal complicação decorrente da infecção genital por esses microrganismos. Também não se questiona sua correlação com a endometrite puerperal^{6, 7, 23}.

Sua incidência na população é variável, mas condições econômicas desfavoráveis e promiscuidade sexual estão associadas à maior frequência de seu isolamento²¹.

A falta de parede celular nos microrganismos da família *Mycoplasmataceae* é responsável por seu pleomorfismo e permite um contato direto da bactéria com as células do hospedeiro, levando a trocas de elementos/substâncias celulares entre esses agentes e o tecido acometido, desencadeando reações auto-ímunes, como, por exemplo, a síndrome de Reiter. Tem sido demonstrado, *in vitro*, que *Mycoplasmas* podem aumentar o efeito citopático do HIV e induzir ativação de

linfócitos B, T e citocinas em diferentes tipos de células, tanto em animais como em humanos, podendo produzir superantígenos^{1, 10, 14}. Não são claros os mecanismos pelos quais os *Mycoplasmas* formariam os superantígenos.

Em nosso meio, são raras as informações sobre a infecção genital pelo *Mycoplasma* em mulheres, não permitindo inferir a frequência dessas infecções e suas correlações com a gravidez e a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1).

Este estudo objetiva avaliar a frequência da infecção genital pelo MH e/ou UU em mulheres contaminadas pelo HIV-1, em gestantes e seus grupos controles.

CASUÍSTICA E MÉTODO

Estudo prospectivo, desenvolvido no Ambulatório de Moléstias Infecto-Contagiosas do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP), de 1994 a 1996. Foram avaliadas 183 mulheres distribuídas em quatro grupos:

- Grupo I: gestantes não portadoras do HIV-1 (61 pacientes);
- Grupo II: gestantes portadoras do HIV-1 (12 pacientes);
- Grupo III: mulheres não gestantes, portadoras do HIV-1 (60 pacientes); e
- Grupo IV: mulheres não gestantes e não portadoras do HIV-1 (50 pacientes).

Para o diagnóstico da infecção pelo HIV-1 utilizou-se a pesquisa de anticorpos contra o vírus, pelo método imunoenzimático (ELISA), em duas amostras distintas. Como método confirmatório empregou-se o *Western Blot* (WB).

Procedeu-se de cada paciente a colheita de espécimes endocervicais por meio de *swab*, o qual era descarregado em tubo contendo meio de transporte, levado imediatamente ao Laboratório de Microbiologia e estocado a -20° C até o momento da semeadura (não ultrapassando 24 horas de armazenamento).

O meio de transporte foi composto por digestão pancreática de caseína (bacto casitone), 1,70g; digestão papáinica de soja (peptona de soja), 0,30g; dextrose, 0,25g; cloreto de sódio, 0,50g; fosfato dipotássico, 0,25g; e água deionizada e bidestilada, 99ml. Esta solução era autoclavada a 121°C por 20' e, a seguir, adicionava-se cloridrato de L-cisteína estéril (solução a 4%), 0,025ml; fração de soro PPLO, 1ml; anfotericina B, 0,004ml; e penicilina G-potássica, 100.000UI.

O cultivo foi efetivado em meios apropriados e seletivos contendo:

- a) Para MH: caldo PPLO, 2,8g; água deionizada e bidestilada, 140ml; e vermelho de fenol a 2%, 0,2ml. Autoclavava-se a 121°C por 15' e adicionava-se soro de cavalo, 40ml; extrato de levedura, 20ml; cloridrato de L-arginina (solução a 30%), 1,32ml; suplemento VX, 2ml;

*O diagnóstico da
infecção genital por MH
e/ou UU baseou-se no
cultivo em diluições
seriadas.*

e penicilina G-potássica, 100.000UI (pH final de 7,0, NaOH 1N).

b) Para UU: caldo PPLO, 2,8g; água deionizada e bidestilada, 140ml; e indicador vermelho de fenol e pH a 5,5 com solução de HCl 2N. Autoclavava-se a 121°C por 20' e adicionava-se soro de cavalo, 40ml; extrato de levedura, 20ml; cloridrato de L-arginina (solução 30%), 1,0ml; solução de uréia a 10%, 1,0ml; suplemento VX, 2ml; e penicilina G-potássica, 100.000UI (pH final de 6,0).

O diagnóstico da infecção genital por MH e/ou UU baseou-se no cultivo em diluições seriadas procedendo como descrito a seguir:

O swab era descarregado em 3ml do meio de transporte, estando na diluição de 10¹. Para o teste, utilizou-se 200ml do meio específico em cada poço de placas descartáveis, com fundo em "U". No primeiro poço colocava-se 20ml da amostra e procedia-se as diluições seriadas. Assim, obtendo-se diluições de 10¹, 10², 10³, 10⁴, 10⁵ e 10⁶.

A placa era colocada em estufa a 37°C protegida da evaporação por filme plástico. Uma primeira leitura foi realizada com três dias e a leitura final no quinto dia após semeadura.

O exame era considerado positivo quando ocorria a mudança da coloração do meio, de amarelo para vermelho no caso do MH e de vermelho para púrpura no caso do UU, para as diluições acima de 10⁵. Os resultados foram expressos em Unidades de Cor (UC). Considerou-se o exame como negativo quando eram constatadas diluições abaixo de 10⁵.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão distribuídos os resultados dos cultivos endocervicais para MH, considerando-se a possibilidade de gestação. Observou-se que das 73 gestantes, cujas amostras foram cultivadas para o MH, apenas uma (1,4%) foi positiva. Por sua vez, entre as 110 mulheres não gestantes, 14 (12,7%) foram positivas para MH. Evidencia-se o papel supressor da gravidez sobre a colonização endocervical pelo MH, visto que nas pacientes não grávidas as frequências de infecção por este microrganismo (12,7%) foram nove vezes maiores do que entre as gestantes (1,4%).

A condição de ser portadora do HIV-1 não interferiu estatisticamente nos percentuais de positividade deste

microrganismo, como pode ser notado na Tabela 2. Encontrou-se uma frequência de positividade para o MH, entre as pacientes contaminadas pelo HIV-1, de 11,1%, e de 6,3%, para o mesmo agente, entre as pacientes não

soropositivas para o HIV-1, porém os números não mostram diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 2

Distribuição numérica dos resultados dos cultivos endocervicais para *Mycoplasma hominis* (MH), considerando a contaminação ou não da paciente pelo HIV-1

Cultivo para MH	Contaminação pelo HIV-1				Total	
	Sim n	%	Não n	%	n	%
Positivo	8	11,1	7	6,3	15	8,2
Negativo	64	88,9	104	93,7	168	91,8
Total	72	100	111	100	183	100

Os resultados do cultivo para UU são apresentados nas Tabela 3 e 4. Como pode ser notado na Tabela 3, entre as 73 gestantes cujas amostras foram cultivadas para o UU, quatro (5,5%) foram positivas. Raciocínio semelhante entre as pacientes não gestantes demonstrou que apenas duas (1,8%) das 110 amostras foram positivas para este microrganismo.

Tabela 3

Distribuição numérica dos resultados dos cultivos endocervicais para *Ureaplasma urealyticum* (UU), considerando a presença ou não de gravidez

Cultivo para UU	Gestação				Total	
	Sim n	%	Não n	%	n	%
Positivo	4	5,5	2	1,8	6	3,3
Negativo	69	94,5	108	98,2	177	96,7
Total	73	100	110	100	183	100

Tabela 4

Distribuição numérica dos resultados dos cultivos endocervicais para *Ureaplasma urealyticum* (UU), considerando a contaminação ou não da paciente pelo HIV-1

Cultivo para UU	Contaminação pelo HIV-1				Total	
	Sim n	%	Não n	%	n	%
Positivo	3	4,2	3	2,7	6	3,4
Negativo	69	95,8	108	97,3	177	96,6
Total	72	100	111	100	183	100

Tabela 1

Distribuição numérica dos resultados dos cultivos endocervicais para *Mycoplasma hominis* (MH), considerando a presença ou não de gravidez

Cultivo para MH	Gestação				Total	
	Sim n	%	Não n	%	n	%
Presente	1	1,4	14	12,7	15	8,2
Ausente	72	98,6	96	87,3	168	91,8
Total	73	100	110	100	183	100

*A infecção por MH e
UU parece ser baixa
em gestantes e
mulheres infectadas
pelo HIV-1.*

Na Tabela 4 são mostrados os resultados encontrados para os cultivos de UU entre as pacientes contaminadas ou não pelo HIV-1. O cultivo de UU foi positivo em três pacientes soropositivas para HIV-1 (4,2%) e em três soronegativas (2,7%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as populações de gestantes e contaminadas pelo HIV-1.

DISCUSSÃO

O princípio geral de que as gestantes vivenciam uma situação de imunomodulação, portanto mais predispostas às infecções¹⁹, não se confirmou neste trabalho. Contrariamente, observou-se que a colonização endocervical de mulheres não gestantes por MH foi nove vezes maior do que entre as gestantes. Para explicar tal evento, evoca-se as alterações hormonais importantes ao organismo materno suprimindo a colonização genital seletiva para esse microrganismo, funcionando indiretamente como defesa, visto que a infecção pelo MH compromete o prognóstico perinatal^{5, 8, 9}.

Outra hipótese que deve ser apontada são as alterações genitais impostas pela gravidez, ocorrendo mudanças nas características físicas e bioquímicas do muco endocervical. Adicionalmente, o pH vaginal durante a gravidez apresenta forte tendência para tornar-se mais baixo¹⁵, atingindo acidez incompatível com a colonização e infecção pelo MH.

Vale ressaltar que o conteúdo de glicogênio das mucosas genitais aumentam consideravelmente seus depósitos de glicogênio, substrato para o crescimento e multiplicação para os bacilos de Döderlein. Se durante a gravidez o número ou a função defensiva deste bacilo sofre incremento em decorrência de todas as alterações citadas, é lógico que todos os microrganismos disputando este espaço fiquem em desvantagem, como pode talvez ocorrer com o MH. Felizmente, para o feto e a mãe, os germes que colonizam os genitais femininos só o fazem quando há uma disfunção dos bacilos de Döderlein.

Imaginou-se que entre as mulheres gestantes contaminadas pelo HIV-1 houvesse aumento objetivo da infecção pelo MH, o que, do ponto de vista estatístico, também não se confirmou.

Analisando a frequência do UU nas pacientes arroladas neste estudo, observou-se que, apesar das diferenças numéricas verificadas entre gestantes e não gestantes, estas

diferenças não atingiram significância estatística, apesar do pequeno número de casos. Portanto, também para o UU, parece não haver diferença na incidência da infecção por este microrganismo que possa ser correlacionada tanto com a

gestação como pela infecção pelo HIV-1. Apesar de contrário às nossas expectativas, o fato de o achado da infecção do MH ser menos freqüente em gestantes é bastante adequado, pois numericamente estarão reduzidas as complicações perinatais e puerperais desse microrganismo.

O fato da infecção pelo MH e/ou UU não sofrer influência significativa pelo HIV-1 reduz o risco de formação de superantígenos que aceleram o curso natural da infecção por este vírus para formas mais avançadas. Todos estes resultados podem estar desmistificando a infecção por estes microrganismos, não desconsiderando seu potencial patogênico, mas apenas certificando o fato de sua frequência em dois grupos de altíssimo risco para outras complicações (gestante e contaminação pelo HIV-1) ser relativamente baixa.

Como orientação, sugerimos a todos que tenham condições de cultivo para estes microrganismos que os execute, principalmente para aferir a incidência destas infecções em cada serviço, que acreditamos deva ser diferente, com particularidades regionais. Concluindo, as pesquisas sobre as infecções genitais pelo MH e UU devem continuar, necessitando aclarar por quais mecanismos a frequência da infecção pelo MH é mais baixa entre gestantes.

CONCLUSÕES

A infecção por *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* parece ser baixa em gestantes e mulheres infectadas pelo HIV-1.

Sugerimos que o cultivo para esses microrganismos seja realizado sempre que possível.

São necessários maiores estudos para se aclarar por quais mecanismos a frequência da infecção pelo *Mycoplasma hominis* é mais baixa em gestantes.

Endereço para correspondência:
ALCYONE ARTIOLI MACHADO
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP)
Departamento de Clínica Médica
Av. Bandeirantes, 3.900 - CEP 14048-900 - Ribeirão Preto - São Paulo
Tel.: 016-6330436/Fax: 016-6336695 - e-mail: aamachad@fmrp.usp.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLANCHARD, A. et al. - AIDS-Associated Mycoplasmas. *Am. Rev. Microbiol.*, 48:687-712, 1994.
2. BONISSOL, C. - Données actuelles sur les Mycoplasmas. *Ass. Anc. Elev. Inst. Pasteur Paris*, 83:8-14, 1980.
3. BONISSOL, C. - Biologie des Mycoplasmas. *Bull. Mem. Soc. Med. Paris*, 8 (6):155-58, 1980.
4. COLLIER, A.M. et al. - Attachment of *Mycoplasma genitalium* to the ciliated epithelium of human fallopian tubes. In: *Recent Advances in Mycoplasmaology*. STANECK, G., CASSELL, G.H., TULLY, J.G. and WHITCOMB, R.F. (ed.) - Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, pp. 730-732, 1990.
5. DISCHE, M.R. & QUINN, P.A. - Genital Mycoplasma infection and intra-uterine infection: pathologic study of the fetus and placenta. *Am. J. Clin. Pathol.*, 72 (2):167-74, 1979.
6. DUARTE, G. - Doenças sexualmente transmissíveis durante o ciclo gravídico-puerperal. In: *Temas de obstetria* - MORAIS, E.N. (ed.) - Rocca, São Paulo, cp.29, pp. 385-406, 1992.
7. GIBBS, R.S. et al. - Further studies on genital mycoplasmas in intra-aminiotic infection: blood culture and serologic response. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 154: 717, 1986.
8. GNARPE, H. & FRIBERG, J.T. - Mycoplasma as a possible cause for reproductive failure. *Nature*, 242:120-121, 1973.
9. IVERSEN, O.E. & MEHL, A. - Septicemia due to *Mycoplasma hominis*. *Scand. J. Infect. Dis.*, 15:87, 1983.
10. LO, S.C. - Mycoplasma and AIDS. In: *Mycoplasmas. Molecular biology and pathogenesis*. MANU-LOFF, J., MCELHANEY, R.N., FINCH, L.R., BASEMAN, J.B. (ed.) - American Society for Microbiology, cp.32, pp. 525-545, 1992.
11. MÄRDH, P.A. - An overview of infectious agents of salpingitis, their biology and recent advances in methods of detection. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138 (7): 933-51, 1980.
12. MÄRDH, P.A. & WESTRON, L. - Tubal and cervical cultures in acute salpingites with special reference to *Mycoplasma hominis*. *Br. J. Vener. Dis.*, 46:179-86, 1970.
13. MINKOFF, H. - Prematurity: infection as an etiologic factor. *Obstet. Gynecol.*, 62:137, 1983.
14. MONTAIGNIER, L. et al. - Mycoplasmas as cofactors in infection due to the human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.*, 17 (5 1):S309-315, 1993.
15. PEDERSEN-STRAY, B. et al. - Uterine T-Mycoplasmas colonization in reproductive failure. *Am. J. Obst. Gynecol.*, 52:588-90, 1978.
16. PURCELL, R.H. & CHANOCK, R.M. - Mycoplasmas of human origin. In: *Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections*. LENNETTE, E.H. & SCHMIDT, N.J. (ed.) 4th edition, American Public Health Association, Inc. New York, pp. 786-825, 1969.
17. RAZIN, S. - Characteristics of the mycoplasmas as a group. In: *Methods in Mycoplasmaology*. RAZIN, S. & TULLY, J.G. (ed.) - New York, Academic Press, v. I, section A, pp. 3-7, 1983.
18. SIGNORETTI, S.M. et al. - Leucorréias durante a gravidez. Etiologia, incidência, diagnóstico clínico e laboratorial. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 6:133, 1984.
19. SRIDAMA, V. et al. - Decreased levels of helper T cells. A possible cause of immunodeficiency in pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 307:352-56, 1982.
20. TAYLOR-ROBINSON, D. - Genital mycoplasma infections. *Clin. Lab. Med.*, 9:501-23, 1989.
21. TAYLOR-ROBINSON, D. & MCCORMACK, W.M. - The genital Mycoplasmas. *N. Engl. J. Med.*, 302:1003-63, 1980.
22. TULLY, J.G. et al. - Pathogenic mycoplasmas: cultivation and vertebrate pathogenicity of a new spiroplasma. *Science*, 195:892-894, 1977.
23. WILLIAMS, C.M. et al. - Clinical and microbiologic risk evaluation for post-cesarean section endometritis by multivariate discriminant analysis: role of intraoperative mycoplasma, aerobic and anaerobes. *Am. J. Obst. Gynecol.*, 156:967, 1987.