



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - CCS
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

GABRIELA BOAVENTURA FORTUNATO

**AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DAS CULTURAS E DO PERFIL DE
SENSIBILIDADE PARA *MYCOPLASMA HOMINIS* E *UREAPLASMA SPP.*
REALIZADAS PELO SETOR DE MICROBIOLOGIA/HU/EBSERH-UFSC NO
PERÍODO DE 2013 A 2018**

Florianópolis, SC

2019

GABRIELA BOAVENTURA FORTUNATO

**AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DAS CULTURAS E DO PERFIL DE
SENSIBILIDADE PARA *MYCOPLASMA HOMINIS* E *UREAPLASMA SPP.*
REALIZADAS PELO SETOR DE MICROBIOLOGIA/HU/EBSERH-UFSC NO
PERÍODO DE 2013 A 2018**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
em Farmácia da Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito obrigatório para a
conclusão da disciplina para obtenção do grau de
Bacharelado.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Luiza Bazzo
Co-orientadora: Dr.^a Mara Cristina Scheffer

Florianópolis, SC

2019

RESUMO

Introdução: O termo *Mollicutes* é utilizado para designar uma classe de bactérias sem parede celular rígida, contida em uma membrana celular trilaminar. Somente dois gêneros tem relevância clínica: *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, esses podendo ser isolados do trato genital de muitos adultos saudáveis, assim, sendo patógenos oportunistas associados a doenças do trato urogenital. Por não possuírem parede celular, esses microrganismos são intrinsecamente resistentes aos betalactâmicos e demais antimicrobianos de ação em parede celular. Por esse motivo, é fundamental a realização do antibiograma para esses microrganismos isolados de amostras clínicas. **Objetivo:** Análise retrospectiva da frequência e compreensão do perfil de resistência de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp. de pacientes atendidos no Setor de Microbiologia/HU/EBSERH-UFSC, no período de seis anos (2013 - 2018). **Métodologia:** As culturas foram realizadas utilizando o kit Mycoplasma IST 2 para detecção, quantificação e teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum*, em 815 amostras, 797 do gênero feminino e 18 do masculino. A quantificação indica se as amostras apresentam contagem igual ou superior ao valor de corte de 10^4 UFC/amostra e a partir destas são analisados os TSAs. **Resultados:** Um total de 436 (53,5%) apresentaram crescimento independente da contagem, para micoplasmas genitais. A frequência de infecção nas amostras por *Ureaplasma* spp. e *M. hominis* foi de 39,5% (322/815) e 2,8% (23/815), respectivamente. A coinfeção por ambos mostrou-se presente em sete amostras. As amostras positivas foram prevalentes no gênero feminino 41,2% (336), sendo 0,2 (2) do masculino e em pacientes com idade igual ou inferior a 30 anos (29,8%). No período de seis anos, observou-se uma alta taxa de resistência ao ciprofloxacino e uma alta sensibilidade foi vista para a tetraciclina, em ambas as bactérias. A partir do isolados estudados pode-se compreender a associação ou não das variáveis como idade, gênero, origem da amostra e coinfeção, juntamente com o perfil de resistência destas bactérias.

Palavras-chave: Frequência. Micoplasmas. *Mycoplasma hominis*. *Ureaplasma* spp. Resistência bacteriana.

ABSTRACT

Introduction: The term Mollicutes is used to designate a class of bacteria without a rigid cell wall, contained in a trilaminar cell membrane. Only two genera have clinical relevance: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*, which can be isolated from the genital tract of many healthy adults, thus being opportunistic pathogens associated with diseases of the urogenital tract. Because they do not have a cell wall, these microorganisms are intrinsically resistant to beta-lactams and other antimicrobial agents acting on cell walls. For this reason, it is essential to perform the antibiogram for these microorganisms isolated from clinical samples. **Objective:** Retrospective analysis of the frequency and comprehension of the resistance profile of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp. of patients seen in the Microbiology Sector / HU / EBSERH-UFSC, in the six year period (2013 - 2018). **Methods:** The cultures were carried out using the *Mycoplasma* IST 2 kit for the detection, quantification and antimicrobial susceptibility test (TSA) of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* / *parvum*, in 815 samples, 797 females and 18 males. The quantification indicates if the samples have a count equal to or greater than the cutoff value of 104 CFU / sample and from these the TSAs are analyzed. **Results:** A total of 436 (53.5%) presented independent growth of the count for genital mycoplasmas. The frequency of infection in the samples by *Ureaplasma* spp. and *M. hominis* was 39.5% (322/815) and 2.8% (23/815), respectively. Coinfection by both was present in seven samples. The positive samples were prevalent in the female gender, 41.2% (336), 0.2 (2) of the male, and in patients aged 30 years or less (29.8%). In the six-year period, a high rate of resistance to ciprofloxacin was observed and a high sensitivity was seen for tetracycline in both bacteria. From the isolates studied one can understand the association or not of variables such as age, gender, sample origin and coinfection, together with the resistance profile of these bacteria.

Keywords: Frequency. Micoplasmas. *Mycoplasma hominis*. *Ureaplasma* spp. Bacterial resistance.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 MOLLICUTES.....	5
2.1.1 <i>Ureaplasma spp.</i>.....	5
2.1.2 <i>Mycoplasma hominis.</i>.....	6
2.1.3 <i>Mycoplasma genitalium.</i>.....	6
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	6
2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	7
2.4 DIAGNÓSTICO.....	8
2.5 TRATAMENTO.....	9
3 OBJETIVOS.....	10
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	10
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
4 JUSTIFICATIVA.....	11
5 METODOLOGIA.....	12
5.1 LEVANTAMENTO DAS INFORMAÇÕES.....	12
5.2 PADRONIZAÇÃO DA PCR.....	12
6 RESULTADOS.....	13
7 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO.....	14
8 REFERÊNCIAS	15

1 INTRODUÇÃO

O termo *Mollicutes* é originário de mollis (macio) e cútis (pele), e é utilizado para designar uma classe de bactérias sem parede celular rígida, contida em uma membrana celular trilaminar (JORGENSEN *et al.*, 2015). Somente dois gêneros tem relevância clínica: *Mycoplasma* (“forma de fungos”) e *Ureaplasma*.

Em humanos, micoplasmas e ureaplasmas são associados à mucosa, como colonizantes do trato respiratório ou urogenital, raramente penetrando na submucosa, exceto em casos de imunossupressão ou instrumentação. Podem ser isolados *M. hominis* e *Ureaplasma* spp. do trato genital de muitos adultos saudáveis, mas existem evidências de que esses microrganismos desempenham papéis etiológicos em algumas doenças do trato urogenital. Essas espécies têm sido associadas principalmente a infecções do trato urinário e uretrite, em homens, e em mulheres, à doença inflamatória pélvica (DIP), cervicite, vaginose bacteriana e complicações na gestação podendo levar ao aborto (JORGENSEN *et al.*, 2015).

Quando isolados em qualquer quantidade, de sítios anatômicos estéreis, esses microrganismos são significativamente associados à doença. No entanto, por estarem presentes no trato urogenital de indivíduos saudáveis, a pesquisa desses microrganismos deve ser feita de forma quantitativa em uretra e secreção endocervical/vaginal (JORGENSEN *et al.*, 2015). Quando *M. hominis* é isolado de trato genital feminino em quantidade superior a 10^4 organismos, são geralmente associados a vaginose bacteriana. Espécies de *Ureaplasma* isoladas em quantidade superior a 10^4 em uretra masculina são frequentemente associadas a uretrite podendo estar relacionadas a infecções altas do trato urinário, e em amostras genitais femininas de gestantes podem levar a corioamnionite, abortos, prematuridade e baixo peso ao nascer. Por não possuírem parede celular, esses microrganismos são intrinsecamente resistentes aos betalactâmicos e demais antimicrobianos de ação em parede celular. Resistência aos macrolídeos como a eritromicina, é intrínseca de *M. hominis*. Fluoroquinolonas são normalmente ativas nessas espécies, no entanto, mutações nos genes da DNA girase e/ou topoisomerase têm sido descritas (DANDO *et al.*, 2012; JORGENSEN *et al.*, 2015). Por esse motivo, é fundamental a realização do antibiograma para esses microrganismos isolados de amostras clínicas.

O presente trabalho é uma avaliação temporal retrospectiva do banco de dados de culturas para *M. hominis* e *U. urealyticum/parvum* do laboratório de microbiologia do HU/UFSC/EBSERH. O estudo propôs a verificar os laudos das culturas realizadas nos últimos seis anos, de 2013 a 2018, para avaliar a positividade e quantificação dos microrganismos isolados, associando com o espécime clínico, bem como com o perfil de sensibilidade ao longo do período.

2 JUSTIFICATIVA

Existem muitas preocupações e controvérsias sobre o tratamento dos *Mollicutes* associados ao trato geniturinário, gerando dúvidas se realmente deve-se, ou não, tratar algumas espécies. Tendo em vista que, na maioria das vezes, estas são comensais e, com o tratamento, vem ocorrendo resistência aos antimicrobianos utilizados. O tratamento desnecessário pode gerar possível multirresistência de algumas espécies. Atualmente isolados MDR de *Mycoplasma genitalium* vêm preocupando a comunidade científica.

No Brasil, não há muitos estudos relacionados ao tema, sendo de muita relevância o conhecimento do perfil de resistência e frequência destes microrganismos em nossa população, visando novos rumos para tratamento e controle dessas bactérias. A análise sistemática da evolução da resistência aos antimicrobianos em laboratórios de rotina é fonte importante de informação da dinâmica das infecções nas comunidades.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MOLLICUTES

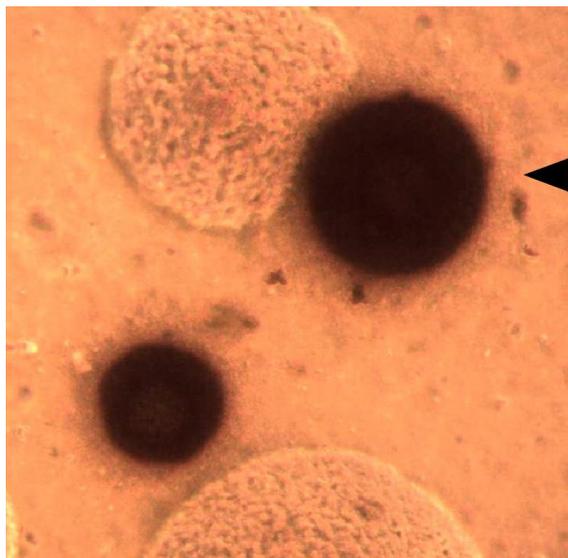
Mollicutes é uma classe de bactérias caracterizada pela ausência de parede celular, estão contidos em uma membrana celular trilaminar, por esse motivo não coram pelo método de Gram e apresentam morfologia pleomórfica. Apresentam-se com tamanho celular e genoma reduzidos, são eubactérias que evoluíram de células gram-positivas *clostridium-like*, por deleção de genes. Com isso, esses microrganismos perderam a maioria de suas atividades biossintéticas, necessitando de hospedeiros para aquisição de nutrientes (WAITES; TALKINGTON, 2004). Essas bactérias são pequenos parasitas procariotos e estão entre os microrganismos auto replicantes com os menores genomas já conhecidos (HALBEDEL; HAMES; STULKE, 2007).

São capazes de infectar plantas, animais e humanos. Atualmente são descritas 118 espécies de Mycoplasmas, sendo 18 isoladas em humanos, e sete de Ureaplasmas, sendo duas isoladas em humanos. As espécies de maior importância clínica são *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* (BROOKS, Geo. F. et al, 2014). Neste trabalho serão abordadas somente as espécies pesquisadas associadas a infecções do trato urogenital, pesquisadas no Hospital Universitário/ UFSC/ EBSEH.

3.1.1 *Ureaplasma spp.*

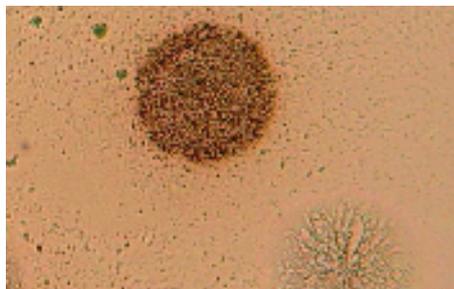
O gênero *Ureaplasma* possui apenas duas espécies de importância clínica em humanos, *U. urealyticum* e *U. parvum* diferenciadas somente por métodos moleculares (OPLUSTIL, 2010; PARALANOV, LU et al., 2012). São bactérias cocoides, medindo entre 0,2 e 0,3 µm de diâmetro, formam colônias pequenas (13 a 15 µm), geralmente visualizadas por microscopia, com morfologia semelhante a ouriço do mar (Figura 1 e 2). Possuem a enzima urease, que hidrolisa a ureia, produzindo amônia, que leva a produção de ATP, necessária para as reações metabólicas celulares (OPLUSTIL, 2010).

Figura 1 – *Ureaplasma* spp.



Fonte: adaptado de Capoccia et al. (2013, p. 42 - Fig.1A)

Figura 2 – Colônia de *Ureaplasma* spp.



Fonte: adaptado de Nenoff (2017, p.55)

3.1.2 *Mycoplasma hominis*

Assim como as demais espécies de *Mycoplasma*, *M. hominis* tem seu metabolismo e geração de energia proveniente da hidrólise da arginina, sendo essa, essencial para seu crescimento tanto *in vitro* com *in vivo* (OPLUSTIL, 2010). São bacilos em formato cônico, medindo entre 1 a 2 μm de comprimento. Crescem melhor na presença de CO_2 e as colônias bacterianas se assemelham a ovos fritos (Figura 3 e 4). Metaboliza a arginina, produzindo amônia, que leva a produção de ATP, necessária para as reações metabólicas celulares (BLANCHARD e BROWING, 2005; OPLUSTIL, 2010).

Figura 3 – *Mycoplasma hominis*



Fonte: adaptado de Capoccia *et al.* (2013, p. 42 - Fig.1A)

Figura 4 – *Mycoplasma hominis*



Fonte: adaptado de Nenoff (2017, p. 55)

3.2 EPIDEMIOLOGIA

Espécies de *Mycoplasmas* e *Ureaplasmas* que acometem o trato urogenital são transmitidos por contato genital ou oral-genital, passados de mucosa para mucosa e podem ser adquiridos sozinhos ou em associação com outros patógenos sexualmente transmissíveis.

Na população mundial, são encontrados em mulheres e homens, de forma assintomática e sintomática, sendo considerados comensais e patógenos oportunistas, podendo desencadear quadros clínicos diversos (WAITES, K., C.

BÉBÉAR, et al., 2011). Estudos de prevalência mostram variação de acordo com a idade, sexo e práticas sexuais do paciente, alguns estudos encontraram maior prevalência em indivíduos de raça negra (TAYLOR-ROBINSON E JENSEN, 2011; BAUMANN 2018). Não existem vacinas, a melhor forma de prevenção são as práticas sexuais seguras.

3.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Mollicutes que acometem o trato geniturinário são considerados agentes de Infecção Sexualmente Transmissível (IST), apesar de se apresentam de forma comensal principalmente em mulheres, podem contribuir para inúmeras doenças do trato geniturinário (STRAUSS M, *et. al.*, 2018).

Os mecanismos de patogenicidade não estão bem elucidados. Acredita-se que por não possuírem parede celular, apresentam capacidade de ligação íntima com a célula hospedeira, podendo causar diversas alterações celulares como estímulo ou inibição mitótica, aberrações cromossômicas e resposta imunológica (DANDO; NITSOS, et al, 2012). Acredita-se que o início de sua colonização e infecção é associado a algumas proteínas de citoaderência presentes na sua superfície, possibilitando a adesão às células (CUNHA, 2001; HOPFE, DAHLMANNNS e HENRICH, 2011).

M. hominis foi isolado pela primeira vez em 1937, a partir de cultura pura de abscesso de glândula de Bartholin (WAITES *et al.*, 2012, ISON *et al.*, 2018). Não há evidências de sua associação com uretrites não gonocócicas, mas foram associados a infecções neonatais, e a pacientes com pielonefrite aguda (BROOKS, 2014). Não são agentes de vaginites, mas estão entre os vários microrganismos que proliferam em pacientes com vaginose bacteriana (KEANE, THOMAS *et al.*, 2000). Foi isolado de mulheres com salpingite e doença inflamatória pélvica (MIETTINEN, 1987).

Estudo sugere associação positiva entre a presença de *M. hominis* e vírus HIV, decorrente da hidrólise da arginina feita por essa bactéria. A arginina está envolvida na citotoxicidade dos macrófagos, e afeta negativamente a imunidade do paciente, influenciando a progressão do HIV (RAZIN, 2006).

Espécies de *Ureaplasma* são comumente encontradas no trato genital de indivíduos saudáveis, no entanto, existem evidências associando esses microrganismos com doenças do trato geniturinário. Em homens foram associados à uretrite não gonocócica e à epidídimo-orquite aguda (JALIL, DOBLE et al., 1988). Em mulheres, foram associados à síndrome uretral, aborto, prematuridade, corioamnionite e baixo peso ao nascer (Chaim *et al.*, 2003, Waites *et al.*, 2005). Por serem produtores de urease, induzem a cristalização de estruvita e fosfato de cálcio *in vitro* e são isolados mais frequentemente em pacientes com cálculo urinário tipo infecção do que naqueles com cálculo tipo metabólico (Grenabo *et al.*, 1988) *U. urealyticum* parece estar associado à indução da produção de citocinas inflamatórias, resultando processos patogênicos (TAYLOR-ROBINSON E JENSEN, 2011; DEGUCHI T, SHIMADA Y, HORIE K et al., 2015).

3.4 DIAGNÓSTICO

A detecção laboratorial das espécies de *Mycoplasma* e *Ureaplasma* pode ser realizada por diferentes métodos, como cultivo em meios enriquecidos, métodos imunológicos e métodos moleculares. *M. hominis* e espécies de *Ureaplasma* crescem bem em meios de cultura enriquecidos, sendo a cultura considerada o método de escolha para estes microrganismos. Diferentemente de *M. genitalium* que, por sua capacidade biossintética reduzida, tem um crescimento dificultado, necessitando de métodos moleculares para sua identificação e avaliação da sua sensibilidade (RAZIN, 2006; HAMASUNA, 2007).

São microrganismos extremamente sensíveis a condições ambientais adversas, devendo ser inoculados em meios de transporte apropriado imediatamente após a coleta. O ideal é que as culturas quantitativas em meios líquidos, *in house* com meios M42 e U9, ou comerciais, sejam seguidas de cultura em meio sólido (ágar A7), para confirmar o crescimento de colônias características para. (OPLUSTIL, 2010). A cultura *in house* e em meios sólidos é bastante trabalhosa, sendo pouco utilizada nos laboratórios de rotina. Os *kits* comerciais permitem realizar cultura, quantificar e avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos simultaneamente. Existem diferentes kits comerciais disponíveis no Brasil, como Mycoplasma IST (Biomérieux,

França) e Mycofast Evolution (EliTechGroup, EUA), que possibilitam a cultura quantitativa e diferem entre si pela composição do painel de antimicrobianos.

A cultura, tanto *in house* quanto por kits comerciais, é baseada nas propriedades metabólicas específicas de cada gênero, ou seja, na capacidade de hidrólise da arginina pelo *M. hominis* e de hidrólise da ureia pelo *Ureaplasma urealyticum/parvum*. Os substratos (arginina e/ou uréia) quando hidrolisados pelos microrganismos produzem amônia, promovendo aumento do pH, com conseqüente mudança de cor do indicador do meio, vermelho de fenol. A alteração da cor do amarelo para o vermelho indica presença dos microrganismos na amostra (BLANCHARD e BROWING, 2005; OPLUSTIL, 2010).

Os métodos moleculares ou de amplificação do ácido nucleico (NAAT), realizados por PCR (reação em cadeia da polimerase), amplificam o DNA, obtendo inúmeras cópias de uma sequência de ácido nucleico específica do microrganismo pesquisado. Os NAATS são considerados sensíveis e específicos para detecção destes microrganismos. No entanto, não são recomendados para *M. hominis* e espécies de *Ureaplasma* devido à alta prevalência de colonização em pessoas assintomáticas, sexualmente ativas (HORNER et al., 2018). Especialistas não recomendam triagem de rotina para *M. hominis* e *U. urealyticum/parvum* em homens e mulheres assintomáticos. Em mulheres sintomáticas, recomendam pesquisar e tratar primeiramente vaginose bacteriana. Em homens sintomáticos, recomendam excluir infecção por agentes tradicionais de uretrites (*N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. genitalium* e *T. vaginalis*), antes de realizar testes para *U. urealyticum*, e tratar somente pacientes com alta carga da bactéria (realizar cultura quantitativa). A preocupação atual com o excesso de tratamento, baseado em diagnóstico molecular para microrganismos presentes na microbiota genital de indivíduos saudáveis, irá resultar em aumento da resistência aos antimicrobianos, inclusive para *M. genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamidia trachomatis* (HORNER, 2018).

Assim, a diferenciação entre a colonização e a infecção, baseada na quantidade de microrganismos na amostra, é importante para estabelecer ou não a utilização de terapia antimicrobiana. A cultura quantitativa realizada em meio líquido, determina o número de microrganismos presentes por cada mililitro de amostra biológica, sendo traduzido por UAC/mL (Unidades de alteração de cor por mL).

3.5 TRATAMENTO

Mollicutes são naturalmente resistentes aos antimicrobianos que interferem na síntese da parede celular, como betalactâmicos (penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos), além de sulfametoxazol/trimetoprima, polimixina, rifampicina, nitrofurantoína e vancomicina (OPLUSTIL, 2010; HORNER, 2018).

Os antimicrobianos mais utilizados no tratamento de *Mollicutes* são as tetraciclina, macrolídeos e as quinolonas. Sendo a Azitromicina, Ciprofloxacino, Claritromicina, Doxiciclina, Eritromicina, Ofloxacino e Tetraciclina os medicamentos mais comuns na clínica.

A sensibilidade aos macrolídeos e lincosamidas é variável conforme a espécie, as espécies de *Ureaplasma* são sensíveis à eritromicina e clindamicina. *M. hominis* é resistente à eritromicina. As fluoroquinolonas são os únicos que possuem ação bactericida para micoplasmas e ureaplasmas, já os outros antimicrobianos citados possuem ação bacteriostática (OPLUSTIL, 2010).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o resultado das culturas para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp. realizadas pelo setor de microbiologia/HU/EBSERH-UFSC, no período de 2013 a 2018.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência do crescimento significativo ($\geq 10^4$ UAC/mL) nas culturas para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* no período do estudo;
- Correlacionar variáveis epidemiológicas como gênero e idade, bem como, ano e origem da coleta de amostra com crescimento significativo de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum*;
- Avaliar o perfil de sensibilidade dos antimicrobianos testados para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* ao longo do período estudado.

5 METODOLOGIA

5.1 PESQUISA EXPLORATÓRIA RETROSPECTIVA

5.2 AMOSTRAGEM

Foram analisados os resultados das culturas para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum*, e dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), realizados no setor de Microbiologia da Divisão de Análises Clínicas (DACL) do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, localizado na Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2018.

As culturas foram realizadas utilizando o kit Mycoplasma IST 2 (Biomérieux, França), que é composto por um frasco contendo meio de transporte (R1), um frasco contendo meio de cultura liofilizado (R2) e uma tira plástica (Figura 5) com poços para identificação de *Ureaplasma urealyticum/parvum* (Uu) e *Mycoplasma hominis* (Mh), quantificação bacteriana ($Uu \geq 10^4$ e $Mh \geq 10^4$) e teste de sensibilidade para nove antimicrobianos liofilizados (Doxiciclina: Dot, Josamicina: Jos, Ofloxacina: Ofi, Eritromicina: Ery, Tetraciclina: Tet, Ciprofloxacina: Cip, Azitromicina: Azi, Claritromicina: Cla e Pristinamicina: Pri).

Figura 5 - Teste Mycoplasma IST 2



Fonte: registrado pela autora (2019)

Amostras endocervicais e uretrais foram coletadas por swab e colocadas imediatamente no meio de transporte do *kit*. No laboratório de microbiologia o frasco com meio de transporte foi homogeneizado e todo o conteúdo foi transferido para o frasco R2, contendo meio de cultura liofilizado. Após homogeneização, 55 μ L do meio

de cultura foi dispensado em cada poço do kit, que foi imediatamente vedado com vaselina líquida estéril. A cultura foi incubada a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, com leitura em 24 horas e 48 horas.

A mudança de cor de amarelo para vermelho nos poços de identificação e quantificação, indicam a presença de *Ureaplasma urealyticum/parvum* (Uu) e/ou *Mycoplasma hominis* (Mh). O crescimento no poço $\geq 10^4$ /Uu em até 24 horas de incubação indica quantidade de *Ureaplasma* $\geq 10^4$ UFC/amostra (unidades formadoras de colônia). Para *Mycoplasma hominis* a leitura no poço $\geq 10^4$ /Mh deve ser a realizada em 24 e 48 horas.

No teste de sensibilidade os antimicrobianos possuem duas concentrações, com exceção da pristinamicina. As duas concentrações de cada fármaco permitem caracterizar os isolados como sensíveis quando não há crescimento nas concentrações baixa e alta (Figura 5 DOT, JOS, TET); Intermediário, quando há crescimento na concentração baixa (Figura 5 OFL e CIP); ou resistente, quando há crescimento nas duas concentrações do antimicrobiano (Figura 5 ERY, AZI, CLA).

No laudo do setor de microbiologia são liberados somente os antimicrobianos Ofloxacina, Eritromicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Azitromicina, Claritromicina, pois os demais não são padronizados no HU ou não tem registro no Brasil.

A busca no sistema de administração hospitalar do HU-UFSC, no Setor de Microbiologia, incluiu o período de 2013 a 2018. As variáveis consultadas foram: gênero do paciente, idade, tipo de amostra, data de realização, setor requisitante, resultado da cultura e o resultado do antibiograma, caso a cultura tivesse um crescimento superior a 10^4 UFC/amostra. Esses dados alimentaram uma planilha excel para as análises posteriores. Os dados foram identificados com numeração sequencial, sem qualquer registro da identidade do paciente.

5.3 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram analisados no programa SPSS Statistics, versão 22.0. A associação entre as variáveis nominais (gênero, idade do paciente, setor requisitante, data de realização do teste, resultado da cultura e sensibilidade antimicrobiana) e os desfechos (cultura positiva, coinfeção e sensibilidade antimicrobiana) de *M. hominis* e *U. urealyticum/parvum* foi realizada pelo teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher.

Análise de Regressão Logística Binária foi utilizada para verificar a correlação entre as variáveis nominais e os desfechos.

6 RESULTADOS

Durante o período estudado (2013 - 2018), foram realizadas 815 culturas para *M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* em amostras urogenitais no setor de microbiologia/HU/EBSERH-UFSC. Do total de amostras 97,8% (797/815) foram provenientes de raspado cervical (feminino) e 2,2% (18/815) de raspado uretral (masculino). A média de idade dos pacientes foi de 29 anos (14-57anos), 67,5% (550/815) tinham idade igual ou inferior a 30 anos (≤ 30 anos) e 32,5% (265/815) superior a 30 anos (> 30 anos).

Duas amostras masculinas (0,25%) e 434 (53,25%) femininas apresentaram cultura positiva para os micoplasmas urogenitais (crescimento de *M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* independente da contagem de UFC/amostra). Assim, 53,5% (436/815) das amostras apresentaram algum tipo de crescimento para um e/ou para ambas as bactérias.

O ponto de corte considerado significativo para culturas quantitativas de amostras urogenitais, quando há indicação de tratamento, é crescimentos $\geq 10^4$ UFC/amostra. Em quantidades inferiores, esses microrganismos são considerados como parte da microbiota urogenital normal.

Para *Ureaplasma urealyticum/parvum*, a frequência de crescimento foi de 51,3% (418/815), sendo que 77,0% (322/417) dessas amostras apresentaram crescimento $\geq 10^4$ UFC/amostra e 23,0% (96/418) apresentaram crescimento $< 10^4$ UFC/amostra. Dessa forma, do total de amostras analisadas, 39,5% (322/815) apresentaram crescimento significativo de *Ureaplasma urealyticum/parvum*.

Para *M. hominis* a frequência de crescimento foi de 8,7% (71/815), sendo que 32,4% (23/71) dessas amostras apresentaram crescimento $\geq 10^4$ UFC/amostra e 67,1% (48/71) crescimento $< 10^4$ UFC/amostra. Assim, do total de amostras analisadas, 2,8% (23/815) apresentaram crescimento significativo de *M. hominis*.

Em 53 amostras (6,5%), foi observado crescimento simultâneo de *M. hominis* e *U. urealyticum/parvum*. Entre essas, sete amostras apresentaram crescimento significativo dos dois microrganismos, sendo consideradas coinfeção (Tabela1).

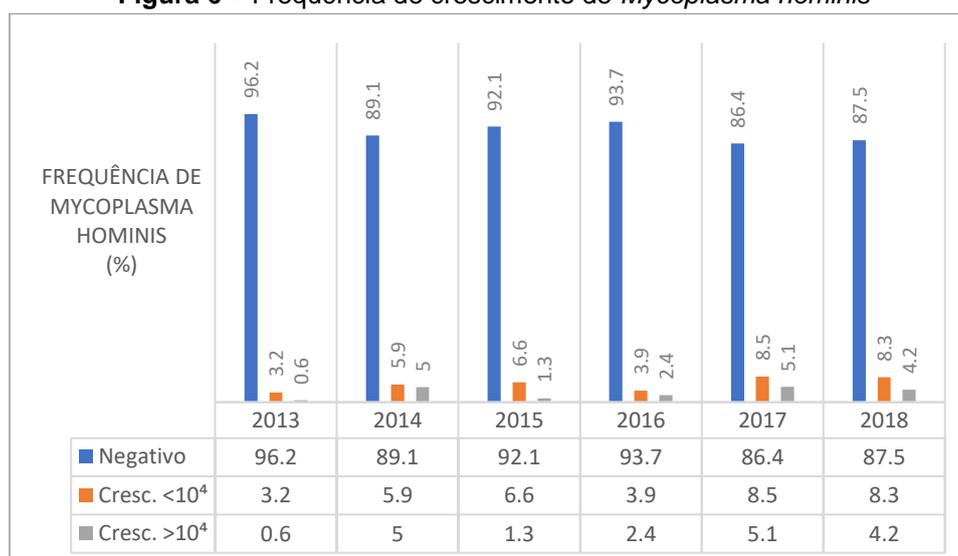
Tabela 1 - Associação entre a positividade para *Ureaplasma* spp. e *M. hominis*

	<i>M. hominis</i> Negativo e Cresc. <10 ⁴	<i>M. hominis</i> positivo (Cresc. ≥ 10 ⁴)	Total
<i>Ureaplasma</i> spp.			
Negativo e Cresc. <10 ⁴	477 (96,8%)	16 (3,2%)	493 (100%)
Positivo (Cresc. ≥ 10 ⁴)	315 (97,8%)	7 (2,2%)	322 (100%)
Total	792 (100%)	23(100%)	815 (100%)

Fonte: elaborado pela autora (2019)

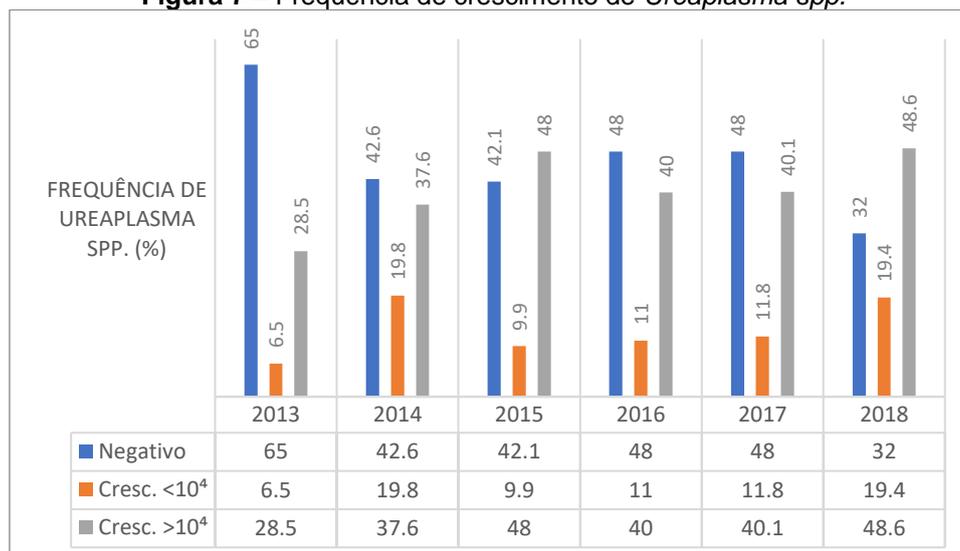
As Figuras 6 e 7 apresentam os resultados quantitativos anuais das culturas para *M. hominis* e *U. urealyticum/parvum*, respectivamente.

Figura 6 – Frequência de crescimento de *Mycoplasma hominis*



Frequência do crescimento de *M. hominis* de acordo com a contagem de UFC/amostra, sendo que crescimento superior ou igual a 10⁴ (≥ 10⁴) é de relevância clínica e crescimento inferior a 10⁴ (< 10⁴) é considerado colonização por este microrganismo.

Fonte: elaborado pela autora (2019).

Figura 7 – Frequência de crescimento de *Ureaplasma spp.*

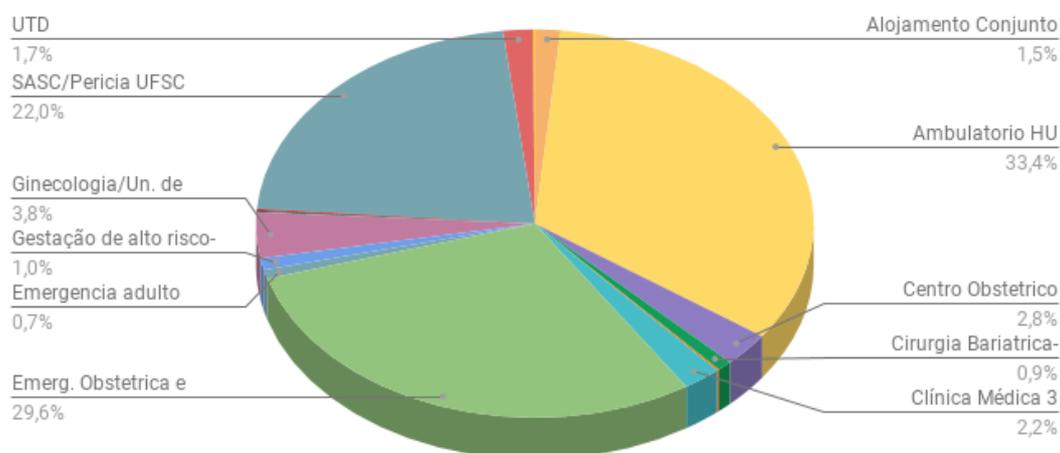
Frequência do crescimento de *U. urealyticum/parvum* de acordo com a contagem de UFC/amostra, sendo que crescimento superior ou igual a 10^4 ($\geq 10^4$) é de relevância clínica e crescimento inferior a 10^4 ($< 10^4$) é considerado colonização por este microorganismo.

Fonte: elaborado pela autora (2019)

Quanto a origem, as amostras foram provenientes dos setores de UTI (n=1), UTD (n=14), Emergência Obstétrica e Ginecológica (n=241), Emergência Adulto (n=6), Centro Obstétrico (n= 23), Unidade de Internação Ginecológica (n=31), Clínica Cirúrgica I: Unidade de Internação (n=1), Alojamento Conjunto (n=12), Clínica Médica III (n=18), Unidade de Quimioterapia (n=1), Ambulatório do HU (n=272), Ambulatório de Gestantes de Alto Risco (n=8), Ambulatório de Cirurgia Bariátrica (n=7), SASC (Serviço de Atendimento à Saúde da Comunidade Universitária)/Perícia UFSC (n= 179) e Hemoterapia (n=1). Os setores com maior número de solicitações para realização da pesquisa de *M. hominis* e *Ureaplasma spp.* foram Ambulatório e Emergência Obstétrica e Ginecológica do HU e SASC/Perícia UFSC (Figura 8).

Figura 8 - Frequência das amostras de acordo com o setor de origem

Setores de Origem da Amostra



Fonte: elaborado pela autora (2019)

A associação entre as variáveis estudadas (idade e gênero dos pacientes, origem e período da coleta) e a presença significativa de *U. urealyticum/parvum* e *M. hominis* nas amostras está descrita na tabela 2.

O crescimento $\geq 10^4$ UFC/amostra para *U. urealyticum/parvum* foi significativamente maior entre indivíduos com idade ≤ 30 anos ($p=0,007$), sexo feminino ($p = 0,013$) e entre as amostras coletadas no setor de ginecologia/obstetrícia ($P<0,001$). Não foi observada associação entre estas mesmas variáveis e o crescimento significativo de *M. hominis* entre as amostras do estudo.

Para esta análise as amostras do estudo foram divididas em dois períodos de três anos cada: de 2013 a 2015 e de 2016 a 2018. No primeiro período, 37,4% das amostras apresentaram crescimento significativo para *U. urealyticum/parvum* e 1,8% para *M. hominis*, subindo para 42,0% e 4,0% no segundo período, respectivamente. Para *M. hominis*, apesar de ter dobrado a porcentagem de culturas com crescimento $\geq 10^4$ UFC/amostra, não foi observada associação significativa no segundo período ($p= 0,63$).

Em relação à presença de coinfeção (*M. hominis* e *U. urealyticum/parvum*), não foi observada associação significativa em relação às variáveis analisadas no estudo.

Tabela 2 - Distribuição das variáveis estudadas de acordo com a presença de *Mycoplasma hominis* e *U. urealyticum/parvum*

Variáveis	Ureaplasma Ausência e Cresc < 10 ⁴	Ureaplasma Cresc ≥ 10 ⁴	P*	Mycoplasma Ausência e Cresc < 10 ⁴	Mycoplasma Cresc ≥ 10 ⁴	P*
Idade (815)	493	322	0,007	792	23	0,264
≤ 30 anos (n=550)	57,3% (315)	42,7% (235)		97,6% (537)	2,4% (13)	
> 30 anos (n=265)	67,2% (178)	32,8% (87)		96,2% (255)	3,8% (10)	
Gênero (815)	493	322	0,013	792	23	1,000
Feminino (n=797)	59,8% (477)	40,2% (320)		97,1% (774)	2,9% (16)	
Masculino (n=18)	88,9% (16)	11,1% (2)		100,0% (18)	0,0% (0)	
Origem da amostra (815)	493	322	<0,001	792	23	0,691
Ambulatório (n=459)	68,6 (315)	31,4% (144)		96,9% (445)	3,1% (14)	
UTI/UTD/QUIMIO (n=16)	68,8% (11)	31,2% (5)		100,0% (16)	0,0% (0)	
Internação (n=31)	41,9% (13)	58,1% (18)		100,0% (31)	0,0% (0)	
Ginecologia/Obstetrícia (n=309)	49,8% (154)	50,2% (155)		97,1% (300)	2,9% (9)	
Período (815)	493	322	0,175	792	23	0,063
2013-2015 (n=439)	62,6% (275)	37,4% (164)		98,2% (431)	1,8% (8)	
2016-2018 (n=376)	58,0% (218)	42,0% (158)		96,0% (361)	4,0% (15)	

*Valores de p para teste Qui-Quadrado e Exato de Fischer

Fonte: elaborado pela autora (2019)

Para *U. urealyticum/parvum* observou-se que pacientes com idade superior a 30 anos têm 34,5% menos chance de ter a infecção em relação aos com idade ≤ 30 anos, RC= 0,655 e o IC 95% (0,482-0,891), p= 0,007. Mulheres têm 5,37 mais chances de infecção em relação aos homens, RC= 5,37 e IC 95% (1,226-23,501), p= 0,013. Amostras provenientes do setor de ginecologia/obstetrícia têm 2,26 vezes mais chance de infecção do que os outros setores (ambulatório, internados, UTD/UTI/QUIMIO), RC= 2,26 e o IC 95% (1,529-2,730). Com relação ao semestre não foi encontrada associação significativa entre a infecção por *U. urealyticum/parvum*.

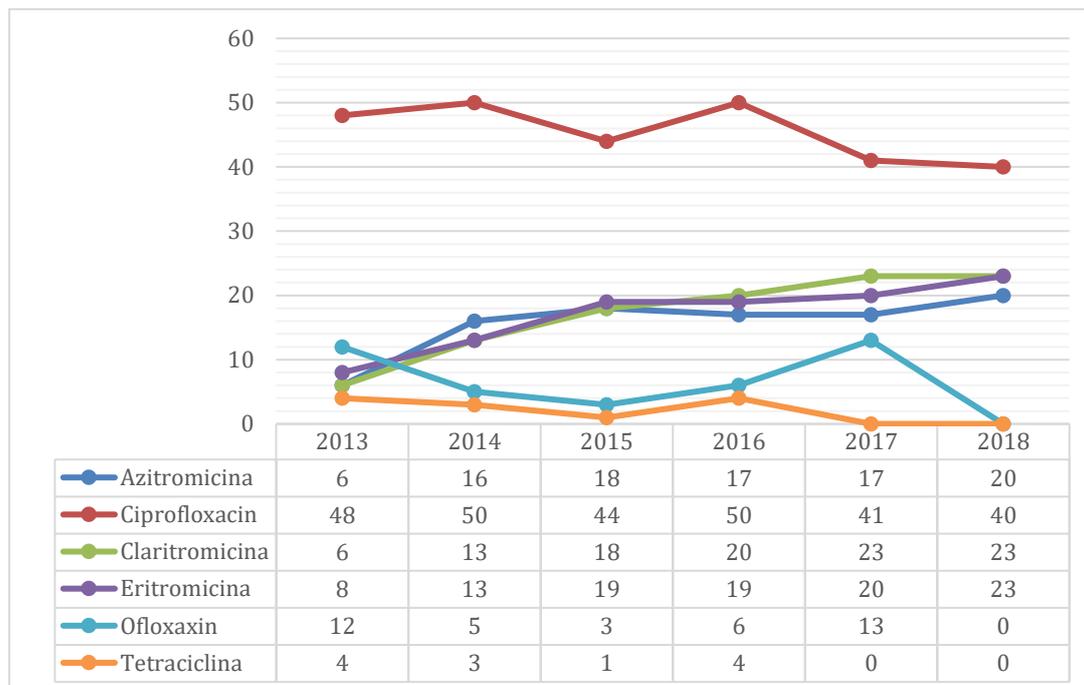
Perfil de sensibilidade dos isolados

A sensibilidade aos antimicrobianos, agrupada segundo o ano de isolamento dos microrganismos está descrita nas tabelas 3 e 4.

Analisando os isolados de *U. urealyticum/parvum*, observou-se um aumento na porcentagem de isolados resistentes à classe dos macrolídeos ao longo dos anos,

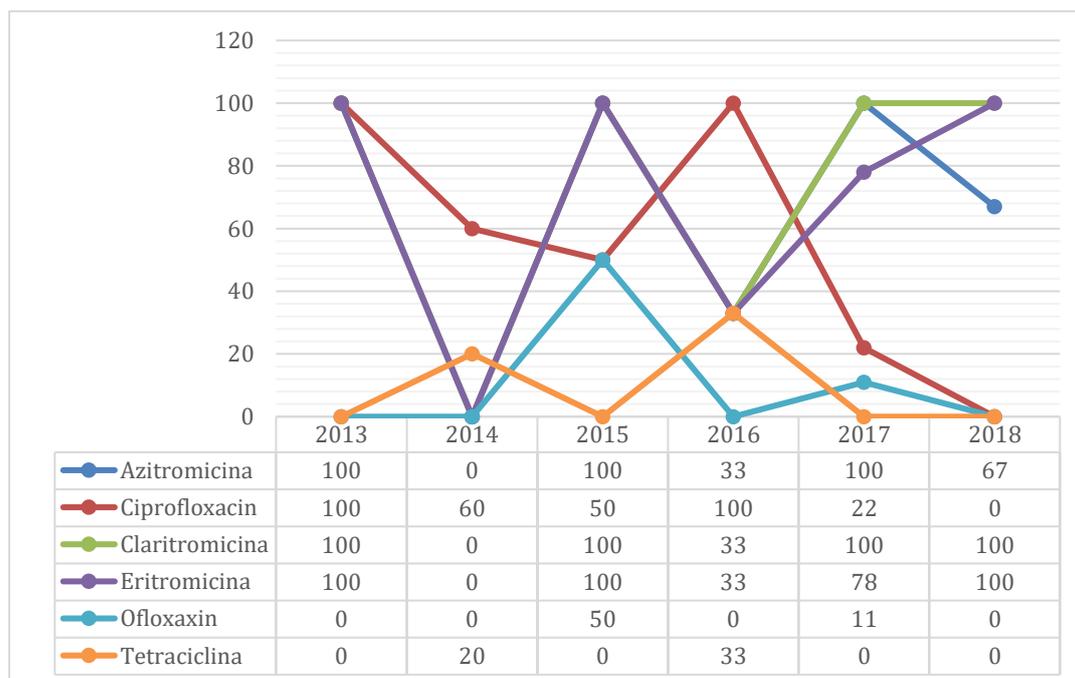
subindo de 5,7% em 2013 para 20,0% em 2018 para azitromicina, de 5,7% em 2013 para 22,9% em 2018 para a claritromicina e de 7,5% em 2013 para 22,9% em 2018 para a eritromicina. Quanto às quinolonas, o ciprofloxacino apresentou a pior atividade entre os antimicrobianos testados, com resistência variando entre 40% nos anos de 2017 e 2018 a 50% nos anos de 2014 e 2016. A resistência ao ofloxacino foi muito menor para os isolados de *U. urealyticum/parvum*, chegando ao máximo de 12,7% no ano de 2017, sendo que em 2018 100% dos isolados foram sensíveis a essa quinolona. Outro antimicrobiano que manteve baixos níveis de resistência para esse microrganismo, durante todo o período do estudo, foi a tetraciclina, que apresentou sensibilidade superior a 96% em todos os anos (Figuras 9 e 10).

Figura 9 – Perfil de resistência de *U. urealyticum/parvum* aos antimicrobianos ao longo dos anos (2013-2018).



Fonte: elaborado pela autora (2019)

Figura 10 - Perfil de Resistência de *Mycoplasma hominis* ao longo dos anos (2013-2018)



Fonte: elaborado pela autora (2019)

Dos 322 TSAs analisados com isolados de *U. urealyticum/parvum*, 54,0% (174/322) apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano e 46,0% (148/322) não apresentaram nenhuma resistência. Outros três (0,9%) apresentaram resistência a cinco dos seis antimicrobianos testados (entre 2015-2017), apresentando sensibilidade somente à tetraciclina.

Isolados de *M. hominis* são intrinsecamente resistentes a eritromicina e outros macrolídeos de 14 e 15 membros no anel lactona, que incluem a claritromicina e a azitromicina. Para esta espécie, o número de isolados foi muito pequeno (23), prejudicando a avaliação anual. No entanto, avaliando todos os 23 isolados, observou-se uma elevada resistência ao ciprofloxacino (43,5%), e baixa resistência ao ofloxacino (8,7%), similar ao observado para *U. urealyticum/parvum*. A tetraciclina também manteve baixos níveis de resistência durante o estudo (8,7%).

Tabela 3 – Perfil de sensibilidade do *Ureaplasma* spp. aos antimicrobianos no período de 2013-2018 (n=322)

Ano/Antimicrobiano	Azitromicina (n= 322)		Ciprofloxacino (n= 322)		Claritromicina (n= 320)		Eritromicina (n= 322)		Ofloxacino (n= 319)		Tetraciclina (n= 322)	
	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R
1º período (n=164)												
2013 (n=53)	94,3% (50)	5,7% (3)	52,8% (28)	47,2% (25)	94,3% (50)	5,7% (3)	92,5%(49)	7,5%(4)	88,0%(44)	12,0%(6)	96,2%(51)	3,8%(2)
2014 (n=38)	84,2% (32)	15,8% (6)	50,0% (19)	50,0% (19)	86,8% (33)	13,2% (5)	86,8%(33)	13,2%(5)	94,7%(36)	5,3%(2)	97,4%(37)	2,6%(1)
2015 (n=73)	82,2% (60)	17,8% (13)	56,2% (41)	43,8% (32)	82,2% (60)	17,8% (13)	80,8%(59)	19,2%(14)	97,3%(71)	2,7%(2)	98,6%(72)	1,4%(1)
2º período (n=158)												
2016 (n=52)	82,7% (43)	17,3% (9)	50,0% (26)	50,0% (26)	80,4% (41)	19,6%(10)	80,8%(42)	19,2%(10)	94,2%(49)	5,8%(3)	96,2%(50)	3,8%(2)
2017 (n=71)	83,1% (59)	16,9% (12)	59,2% (42)	40,8% (29)	77,1% (54)	22,9%(16)	80,3%(57)	19,7%(14)	87,3%(62)	12,7%(9)	100,0(71)	0,0%(0)
2018 (n=35)	80,0% (28)	20,0% (7)	60,0% (21)	40,0% (14)	77,1% (22)	22,9%(8)	77,1%(27)	22,9%(8)	100,0%(35)	0,0%(0)	100,0%(35)	0,0%(0)
Total	84,5% (272)	15,5% (50)	55,0% (177)	45,0% (145)	82,8% (265)	17,2%(55)	82,9%(267)	17,1%(55)	93,1%(297)	6,9%(22)	98,1%(316)	1,9%(6)

Fonte: elaborado pela autora (2019)

Tabela 4 - Sensibilidade do *Mycoplasma hominis* aos antimicrobianos no período de 2013-2018 (n=23)

Ano/Antimicrobiano	Azitromicina (n= 23)		Ciprofloxacino (n= 23)		Claritromicina (n= 23)		Eritromicina (n= 23)		Ofloxacino (n= 23)		Tetraciclina (n= 23)	
	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R	S + I	R
1º período												
2013 (n=1)	0,0%(0)	100,0% (1)	0,0%(0)	100,0% (1)	0,0%(0)	100,0% (1)	0,0%(0)	100,0% (1)	100,0% (1)	0,0%(0)	100,0% (1)	0,0%(0)
2014 (n=5)	100,0% (5)	0,0% (0)	40,0% (2)	60,0%(3)	100,0% (5)	0,0%(0)	100,0% (5)	0,0%(0)	100,0% (5)	0,0% (0)	80,0%(4)	20,0%(1)
2015 (n=2)	0,0% (0)	100,0% (2)	50,0%(1)	50,0%(1)	0,0%(0)	100,0% (2)	0,0%(0)	100,0% (2)	50,0%(1)	50,0%(1)	100,0% (2)	0,0%(0)
2º período												
2016 (n=3)	66,7% (2)	33,3% (1)	0,0%(0)	100,0%(3)	66,7% (2)	33,3% (1)	66,7% (2)	33,3% (1)	100,0%(3)	0,0% (0)	66,7% (2)	33,3% (1)
2017 (n=9)	0,0% (0)	100,0% (9)	77,8%(7)	22,2%(2)	0,0%(0)	100,0% (9)	22,2%(2)	77,8%(7)	88,9%(8)	11,1%(1)	100,0% (9)	0,0%(0)
2018 (n=3)	33,3% (1)	66,7%(2)	100,0%(3)	0,0%(0)	0,0%(0)	100,0%(3)	0,0%(0)	100,0%(3)	100,0%(3)	0,0%(0)	100,0%(3)	0,0%(0)
Total	34,8% (8)	65,2% (15)	56,5%(13)	43,5%(10)	30,4%(7)	69,6%(16)	39,1%(9)	60,9%(14)	91,3%(21)	8,7%(2)	91,3%(21)	8,7%(2)

S= Sensível, I= Intermediário, R= Resistente; Colunas em branco: sinalizam resistência intrínseca. Fonte: elaborado pela autora (2019)

Associação dos antimicrobianos às variáveis

Infecção por *Ureaplasma spp*

A coinfeção por *M. hominis* e *Ureaplasma spp* tem associação com a resistência à eritromicina ($p= 0,018$), ou seja, isolados com coinfeção possuem 6,9 vezes mais chances de desenvolver resistência à eritromicina do que os que não possuem coinfeção, RC= 6,902 e o IC 95% (1,500-31,769), $p= 0,018$.

Para a tetraciclina as variáveis que apresentaram associação com a resistência foram a origem da amostra ($p= 0,030$). Amostras oriundas nos setores de ambulatório, UTD/UTI/QUIMIO e internação tem associação com resistência à tetraciclina. Já as oriundas dos setores de ginecologia/obstetrícia possuem 3,6% menos chances de possuírem bactérias resistentes do que as dos demais setores, RC= 0,964 e o IC95% (0,936-0,993), $p=0,030$.

Em relação ao ciprofloxacino, houve diferença significativa entre a infecção por *Ureaplasma spp* e a resistência à ciprofloxacino em relação à idade ($p=0,039$). Pacientes com idade superior a 30 anos possuem 41,2% menos chance de resistência ao ciprofloxacino, RC= 0,588 e o IC 95% (0,354-0,976), $p=0,039$.

Observou-se associação da resistência à azitromicina em relação aos pacientes com coinfeção por *Ureaplasma spp* e *M. hominis* ($p=0,001$). Estes pacientes possuem 15 vezes mais chances de ter bactérias resistentes à azitromicina do que pacientes infectados apenas com *Ureaplasma spp*. RC= 15,0 e o IC 95% (2,824-79,676), $p= 0,001$.

Foi observado associação da resistência à claritromicina com a infecção por *Ureaplasma spp* em relação ao período de coleta (2013-2015 x 2016-2018) ($p=0,033$). A coinfeção com *M. hominis* ($p= 0,002$) foi associada a colonização e infecção por *M. hominis* ($p<0,001$). Os pacientes diagnosticados no segundo período (2016-2018) possuem associação com a resistência à claritromicina, tendo 1,90 vezes mais chance de ter bactérias resistentes, RC= 1,898 e o IC 95% (1,047-3,441). Isolados com coinfeção por *M. hominis* têm 13,15 vezes mais chance de ter bactérias resistentes à claritromicina, RC= 13,150 e o IC 95% (2,482-69,679), $p=0,002$). Não

houve associação da resistência antimicrobiana ao Ofloxacino com a colonização e/ou infecção por *M. hominis*.

Infecção por *Mycoplasma hominis*

Para o *M. hominis* foi observado associação significativa da resistência à claritromicina com coleta de amostras no segundo período (2016-2018). Esses isolados coletados no segundo período possuem 10,83 vezes mais chance de serem resistentes do que isolados coletados no primeiro período (2013-2015), RC=10,833 e o IC 95% (1,374-85,440), p= 0,026. Não houve associação da resistência antimicrobiana com as demais variáveis estudadas.

7 DISCUSSÃO

O Hospital Universitário/HU-UFSC é considerado uma instituição de referência em saúde para a região da Grande Florianópolis, atendendo exclusivamente usuários do Sistema Único de Saúde (SUS). Oferece aos usuários tratamentos clínicos e cirúrgicos, de ginecologia, obstetrícia com alojamento conjunto, berçário, pediatria, Unidade de Terapia Intensiva - adulto e neonatal, e emergências adulto, obstétrica/ginecológica e pediátrica, realizando em média 11.000 consultas especializadas por mês (GELBCKE *et al.*, 2017-2018).

No presente estudo, foram obtidas 815 solicitações de pesquisa para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* ao longo de 6 anos. Estas, em sua maioria, oriundas dos setores de Ambulatório, Emergência Obstétrica e Ginecológica/HU e SASC/Perícia UFSC. Tendo em vista que esses setores atendem predominantemente o público de gênero feminino, principalmente os setores de Ginecologia Ambulatorial e Emergência Obstétrica e Ginecológica, e esse último aplicando protocolos padronizados para pesquisa/diagnóstico de Infecções Sexualmente Transmissíveis voltadas a mulheres e gestantes de risco/rompimento de membranas, justifica o maior número de solicitações oriundas de pacientes do gênero feminino neste estudo, fato que indica viés na análises comparativas entre resultados de homens e mulheres. Da mesma forma, em relação ao tipo de amostra, os protocolos do setor de microbiologia preconizam, preferencialmente, amostras uretrais para homens e amostras endocervicais para mulheres, justificando que a maioria das amostras foi de raspado endocervical.

Seguindo pela análise dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, levou-se em consideração apenas as culturas com crescimento igual ou superior a 10^4 UFC/amostra, devido a essas bactérias pertencerem a biota do trato genital dos seres humanos, no entanto, quando estão em concentração elevada, podem estar associadas a infecções geniturinárias e há indicação de tratamento. Embora rotineiramente o Setor de Microbiologia/DACL/HU realize TSA para as culturas com crescimento $<10^4$ UFC/amostra, esses resultados não são liberados ficam disponíveis por três meses, caso clinicamente se justifique tratamento do paciente. No entanto, os resultados desses TSAs após esse período são descartados, fato que inviabilizou a análise da variação de resistência ao longo do tempo das amostras com crescimento inferior ao ponto de corte.

A prevalência de *Ureaplasma spp.* e *M. hominis* entre pacientes com resultados clinicamente significativos varia entre as regiões geográficas mundiais. Neste estudo, a prevalência de micoplasmas urogenitais foi de 53,5% nas amostras estudadas. Foi isolado com maior frequência *U. urealyticum/parvum* (39,5%) do que *M. hominis* (2,8%), indicando uma prevalência não proporcional destes dois microrganismos. Muitos estudos demonstram taxas semelhantes (ZDRODOWSKA *et al.*, 2006; AVELAR *et al.* 2007; ZHU, LIU *et al.*, 2012; SONG *et al.*, 2014), entretanto Domingues e colaboradores (2003) e Kataoka e colaboradores (2006) encontraram *Mycoplasma hominis* em maior frequência.

Em relação a sensibilidade para *Ureaplasma spp.*, os isolados foram extremamente sensíveis à tetracilina (96,2% - 100%). Para *Ureaplasma spp* observou-se ao longo dos anos aumento do número de isolados resistentes à claritromicina (5,7% - 22,9%), à azitromicina (5,7% - 20%) e à eritromicina (7,5% - 22,9%), podendo indicar tendência aumento do número de isolados resistentes nos próximos anos. Em relação à resistência ao ciprofloxacino os isolados apresentaram 45% de resistência em todos os períodos, corroborando com outras pesquisas (BAYRAKTAR *et al.*, 2010; KECHAGIA *et al.*, 2008; SKILJEVIC *et al.*, 2016). Por sua vez Schneider e colaboradores (2015) e BEETON e colaboradores (2016) encontraram número menor de isolados resistentes.

Em certa medida, a análise das tendências de resistência do *Ureaplasma spp.* entre 2013 e 2018, em nosso estudo, refletem mudanças no consumo de antibióticos,

o uso de tetraciclina diminuiu, enquanto o uso de macrolídeos e fluoroquinolonas aumentou.

No presente estudo, todos os isolados de *M. hominis* foram suscetíveis à tetraciclina e a ofloxacino. Três isolados (11%) apresentaram resistência a cinco dos seis antimicrobianos. Desses, dois apresentaram sensibilidade apenas para a tetraciclina e um apresentou sensibilidade intermediária para ofloxacino. Houve uma alta porcentagem de isolados resistentes à claritromicina (69,6%), azitromicina (65,2%) e eritromicina (60,9%), nos 23 isolado de *Mycoplasma hominis* com crescimento igual ou superior ao ponto de corte.

M. hominis é intrinsicamente resistente à azitromicina, claritromicina e eritromicina, embora não haja necessidade de avaliar estes antimicrobianos, o fato do *kit* cultivar simultaneamente *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp., as informações de resistência desses antimicrobianos são fornecidas e apenas confirmam o dado conhecido de resistência.

Os isolados com crescimento significativo de *M. hominis* apresentaram altas porcentagens de resistência ao ciprofloxacino (43,5%), outros estudos corroborando que encontraram porcentagens variando de 30 a 40% (BAYRAKTAR *et al.*, 2010; KECHAGIA *et al.*, 2008 e SKILJEVIC *et al.*, 2016). No entanto, isolados resistentes à tetraciclina foram menos frequentes, assim como verificado na maioria dos países europeus (SCHNEIDER *et al.*, 2015; KRAUSSE e SCHUBERT, 2010). Por outro lado, uma pesquisa na Sérvia relata 100% de isolados resistentes à tetraciclina (SKILJEVIC *et al.*, 2016).

As altas taxas de resistência de ambas bactérias, *Ureaplasma* spp. e *M. hominis*, ao ciprofloxacino indicam a necessidade de uma melhor gestão da prescrição e diretrizes seguidas para o tratamento destes microrganismos. Não há comprovação ainda, mas poderá haver influência do resultado de resistência ao ciprofloxacino pelo fato de ter havido modificação em 2017 das recomendações do Ministério da Saúde para o manejo de outras infecções sexualmente transmitidas, como gonorreia, que não recomenda mais o uso de ciprofloxacino (Ministério da Saúde, 2017).

Neste estudo, também foram observadas associações do perfil de resistência de certos antimicrobianos com algumas variáveis. Entre elas, para o *Ureaplasma*, destacam-se a resistência ao ciprofloxacino à idade ≤ 30 anos ($p=0,007$) e ao gênero feminino ($p = 0,013$). Esse apresentando 5,37 vezes mais chances de as mulheres

desenvolverem, do que os homens; e 34,5% menos chance de infecção para os pacientes com idade superior a 30 anos, não sendo encontrado nenhum estudo demonstrando estas associações.

Em relação a pacientes coinfectados por *Ureaplasma spp.* e *Mycoplasma hominis*, as chances de desenvolver resistência à claritromicina, eritromicina e azitromicina são 1,90, 39,88 e 15 vezes maiores, respectivamente. O que pode ser explicado pela resistência intrínseca do *M. hominis* para os macrolídeos.

Para a tetraciclina, são associadas com menos chances de resistência, as amostras provenientes do setor de ginecologia/obstetrícia, possuindo 3,5% menos chances em relação aos demais setores do hospital. O que pode ser explicado devido a diversidade dos setores, suas especializações clínicas e utilização deste antimicrobiano para outros tipos de agentes.

A tetraciclina e o ofloxacino se apresentaram boas opções para o tratamento para ambos micoplasmas genitais em nossa região, embora existam outras opções de tratamento a serem exploradas, como novas quinolonas e clindamicinade.

O estudo apresenta algumas limitações relativas à utilização do *kit* Mycoplasma IST 2. Algumas desvantagens com a utilização deste foram encontradas. Sendo uma delas a não diferenciação das espécies de *Ureaplasma urealyticum* e *parvum*. Outra é que, quando ambos, *M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum/parvum*, estão presentes na amostra, a determinação da sensibilidade antimicrobiana de cada organismo separadamente não é possível, obtendo-se o padrão de sensibilidade relacionado a ambos os micoplasmas e podendo levar a relatos inapropriados de resistência à antimicrobianos.

Tendo em vista as limitações do teste de sensibilidade aos antimicrobianos no ensaio M-IST2, há uma necessidade de introduzir novas metodologias para a melhorar a avaliação de cepas resistentes em nossa população.

8 CONCLUSÃO

Esta é a primeira análise retrospectiva de resultados das culturas de micoplasmas urogenitais na cidade de Florianópolis, em Santa Catarina/Brasil. Sendo realizado no laboratório de microbiologia do HU/UFSC/EBSERH

Houve alta prevalência de crescimento clinicamente significativo para *Ureaplasma* spp. (39,5%) e baixa de *M. hominis* (2,8%) nos isolados estudados ao longo de seis anos. As amostras com crescimento clinicamente significativos foram associadas a pacientes com idade igual ou menor a 30 anos, ao gênero feminino e aos setores de Ambulatório e Emergência Obstétrica e Ginecológica do HU e SASC Perícia.

Considerando os menores níveis de resistência encontrados para a tetraciclina e o ofloxacino, esses se apresentando como boas opções para o tratamento dos micoplasmas urogenitais em nossa região.

Os resultados evidenciam uma resistência de *Ureaplasma urealyticum/parvum* e *Mycoplasma hominis* principalmente ao ciprofloxacino, indicando a necessidade de melhor manejo na hora da prescrição do antimicrobiano em pacientes que apresentam a infecção, corroborando, assim, a tese postulada pelos profissionais do laboratório de que há um aumento da resistência aos antimicrobianos ao longo dos anos no que diz respeito ao tratamento destes microrganismos.

Ressalta a importância de uma pesquisa continuada com a finalidade de compreender mudanças em nossa região ao longo dos anos em relação ao perfil dos pacientes infectados e o perfil de resistência dos micoplasmas urogenitais aos antimicrobianos utilizados na terapia clínica, implicando em um melhor embasamento para essa terapêutica.

REFERÊNCIAS

- AVELAR G.S.; BERTÃO S.A.S.; PÁDUA R.A.F. *et al.* Mycoplasma hominis e Ureaplasma sp. em amostras do trato Genitourinário e sua relação com sintomas de infecção genital. Rev Bras Anal Clin 2007.
- BAUMANN L, Cina M, Egli-Gany D, et al. Prevalence of Mycoplasma genitalium in different population groups: systematic review and meta-analysis. **Sex Transm Infect**, 2018.
- BAYRAKTAR MR, OZEROL IH, GUCLUER N, CELIK O. Prevalence and antibiotic susceptibility of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in pregnant women. Int J Infect Dis 2010.
- BEETON ML, CHALKER VJ, JONES LC, MAXWELL MC, SPILLER OB. Antibiotic resistance among clinical Ureaplasma isolates recovered from neonates in England and Wales between 2007 and 2013. J Antimicrob Chemother, 2016.
- BLANCHARD, A. e BROWING, G. Mycoplasmas: Molecular Biology Pathogenicity and Strategies for Control. Horizon Bioscience, Wymondhan Norfolk, UK.: 603p., 2005
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Nota informativa Nº 6 – SEI/2017-COVIG/CGVP/DIAHV/SVS/MS: Atualização da recomendação nacional do tratamento preferencial da infecção gonocócica anogenital não complicada (uretra, colo do útero e reto). Brasília: Ministério da Saúde, 2017
- BROOKS, Geo. F. et al. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 26. ed. Porto Alegre: AMGH, p. 341-347, 2014.
- CAPOCCIA, R.; GREUB, G.; BAUD, D. Current Opinion in Infectious Diseases ureaplasma urealyticum, mycoplasma hominis and adverse pregnancy outcomes, 2013, P. 42.
- CUNHA, R.. Infecções por micoplasmas. In: Ferreira, A.W; Avila, S.L.M. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. v.16, p. 186-194, 2001.
- DANDO, S. J., NITSOS, I., KALLAPUR, S. G., NEWNHAM, J. P., POLGLASE, G. R., PILLOW, J. J., et al. The role of the multiple banded antigen of Ureaplasma parvum in intra-amniotic infection: major virulence factor or decoy? PLoS ONE 2012.
- DOMINGUES D, TAVORA TAVIRA L, DUARTE A, SANCA A, PRIETO E, EXPOSTO F. Genital mycoplasmas in women attending a family planning clinic in Guiné-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. Acta Trop. 2003.

GLASS JI, ASSAD-GARCIA N, ALPEROVICH N, YOOSEPH S, LEWIS MR, MARUF M, HUTCHISON CA, SMITH HO, VENTER JC Essential genes of a minimal bacterium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006.

GELBCKE, Francine Lima *et al.* **Plano Diretor Estratégico Do Hospital Universitário Prof. Polydoro Ernani De São Thiago**, 2017-2018. Disponível em: <http://www2.ebserh.gov.br/documents/2016343/2016402/Conhe%C3%A7a+o+PDE/ab4c9329-4c4f-4783-9680-56e9c3264f58>. Acesso em: 19 jun. 2019.

HALBEDEL, SVEN; HAMES, CLAUDINE; STULKE, JORG. Regulation of Carbon Metabolism in the Mollicutes and Its Relation to Virulence. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**. 2007.

HAMASUNA R, OSADA Y, JENSEN JS. Isolation of Mycoplasma genitalium from first-void urine specimens by coculture with Vero cells. **J Clin Microbiol** 2007.

DEGUCHI T, SHIMADA Y, HORIE K *et al.* Bacterial loads of Ureaplasma parvum contribute to the development of inflammatory responses in the male urethra. **Int J STD AIDS** 2015.

HOPFE, M., DAHLMANN S, T., HENRICH, B. *et al.* In Mycoplasma hominis the OppA-mediated cytoadhesion depends on its ATPase activity. *BMC Microbiology* v.11, n.185, p. 1-9, 2011.

JALIL, N., DOBLE, A. *et al.* Infection of the epididymis by Ureaplasma urealyticum Genitourin. *Med.* v.62, p.367-368, 1988.

JORGENSEN JH, PFALLER MA, CARROLL KC, FUNKE G, LANDRY ML, RICHTER SS, WARNOCK DW - *Manual of Clinical Microbiology*. 11th. Ed. ASM Press, Washington, DC, 2015.

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. *J Clin Microbiol*. 2006.

KEANE, F. E., THOMAS, B. J. *et al.* The association of Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma genitalium with bacterial vaginosis: observations on heterosexual women and their male partners. *Int. J. STD AIDS* v.11, p.356-360, 2000.

KECHAGIA N, BERSIMIS S, CHATZIPANAGIOTOU S. Incidence and antimicrobial susceptibilities of genital mycoplasmas in outpatient women with clinical vaginosis in Athens, Greece. *J Antimicrob Chemother* 2008.

KHATIB N, BRADBURY C, CHALKER V et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in men with urethritis attending an urban sexual health clinic. **Int J STD AIDS** 2015.

KRAUSSE R, SCHUBERT S. In-vitro activities of tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones and clindamycin against *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp. isolated in Germany over 20 years. *Clin Microbiol Infect* 2010.

MANHART LE. *Mycoplasma genitalium*: an emergent sexually transmitted disease? **Infect Dis Clin North Am** 2013.

MCGOWIN, C. L.; ANDERSON-SMITS, C. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in Woman. **PLoS Pathog.** 2011.

MIETTINEN A. *Mycoplasma hominis* in patients with pelvic inflammatory disease. *Isr J Med Sci.* 1987.

MONTAGNER C.; CRUZ C.F.; ALBINI C.A. *et al.* Prevalência de casos de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* nas secreções endocervicais e urinas de primeiro jato em um laboratório de análises clínicas de Brusque-SC. **Rev Bras Anal Clin** 2007.

MUNSON E; BYKOWSKI H; MUNSON KL, et al. Clinical laboratory assessment of *Mycoplasma genitalium* transcription-mediated amplification using primary female urogenital specimens. **J Clin Microbiol** 2016.

NENOFF P, MANOS A, EHRHARD I, KRÜGER C, PAASCH, HELMBOLD P, HANDRICK W. Nichtvirale sexuell übertragene Infektionen – Epidemiologie, Klinik, Labordiagnostik und Therapie. Teil 2: Chlamydien und Mykoplasmen. *Hautarzt.* 2017, p.55.

OPLUSTIL, Carmen Paz; ZOCCOLI, Cassia Maria; TOBOUTI, Nina Reiko. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica.** 3.ed. São Paulo: Sarvier, p.283-290, 2010.

PARALANOV V, LU J, DUFFY LB, CRABB DM, SHRIVASTAVA S, METHE BA, *et al.* Comparative genome analysis of 19 *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* strains. **BMC Microbiol.** 2012.

RAZIN, S. The Prokaryotes: The Genus *Mycoplasma* and Related Genera (Class Mollicutes). *The Prokaryotes PART 1*, p. 836-904, 2006.

SEÑA AC, LENSING S, ROMPALO A, *et al.* *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Trichomonas vaginalis* infections in men with nongonococcal urethritis: predictors and persistence after therapy. *J Infect Dis.* 2012

SCHNEIDER SC, TINGUELY R, DOROZ S *et al.* Antibiotic susceptibility and sequence type distribution of *Ureaplasma* species isolated from genital samples in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015.

SHORT, V. L., TOTTEN, P.A. *et al.* The demographic, sexual health and behavioural correlates of *Mycoplasma genitalium* infection among women with clinically suspected pelvic inflammatory disease. *Sex Transm Infect* v.86, p.29-31, 2010

SKILJEVIC D, MIRKOV D, VUKICEVIC J. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in genital samples collected over 6 years at a Serbian university hospital. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2016.

STRAUSS M, COLODNER R, SAGAS D, ADAWI A, EDELSTEIN H, CHAZAN B. Detection of *Ureaplasma* species by a semi-quantitative PCR test in urine samples: can it predict clinical significance? *Isr Med Assoc J* 2018.

TAYLOR-ROBINSON, D. e JENSEN, J. S. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to Multicolored Butterfly. *Clinical Microbiology Reviews* v.24, p. 498-514, 2011.

TAYLOR-ROBINSON D, GILROY CB, JENSEN J.S. The biology of *Mycoplasma genitalium*. *Venereology*, 2000.

WAITES, K. B.; TALKINGTON, D. F. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* v. 17, n. 4, p. 697-728, 2004.

WAITES KB, KATZ B, SCHELONKA RL. *Mycoplasmas* and *ureaplasmas* as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.* Vol. 18.4, 2005.

WAITES, K. B., C., BÉBÉAR, M. *et al.* Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. 34 In: CUMITECH Eds. ASM press v.34, p.1-29, 2011.

ZHU, C., LIU, J. *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in Chinese women with genital infectious diseases. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* v.78: p.406-407, 2012.

ZDRODOWSKA-STEFANOW B, KLOSOWSKA WM, OSTASZEWSKAPUCHALSKA I, BUTHAK-KOZIOL V, KOTOWICZ B. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. *Adv Med Sci.* 2006.