



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS PASSO FUNDO

CURSO DE MEDICINA

JÉSSICA KLEIN

**DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REAÇÃO EM
CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO**

PASSO FUNDO, RS

2019

JÉSSICA KLEIN

DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REACÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO

Trabalho de Conclusão do Curso de graduação apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^a. Me. Daniela Augustin Silveira

PASSO FUNDO, RS

2019

PROGRAD/DBIB

KLEIN, JÉSSICA

Detecção de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* por Reação em Cadeia de Polimerase em Exame Citopatológico / Meio Líquido / Jéssica Klein. -- 2019.52.f.

Orientadora: Mestre Daniela Augustin Silveira. Co-orientadora: Doutora Jossimara Poletini.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Medicina, Passo Fundo, RS, 2019.

1. Micoplasma; Ureaplasma; Infecções do trato genital feminino. I. Silveira, Daniela Augustin, orient. II. Poletini, Jossimara, co-orient. III.

Fonte: Elaborada pela autora, 2019.

JÉSSICA KLEIN

DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REACÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO

Trabalho de Conclusão do Curso de graduação apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^a. Me. Daniela Augustin Silveira

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi defendido e aprovado pela banca em:
21/11/2019.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Me. Daniela Augustin Silveira– UFFS
Orientadora

Me. Silvane Nenê Portela

Me. Andréia Jacobo

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me fortalecer e encorajar diariamente, e aos meus pais que com muito carinho e apoio não mediram esforços para que eu pudesse viver essa experiência.

Agradeço a minha professora Daniela Augustin Silveira pela dedicação como orientadora e pela imprescindível participação em todas as etapas do estudo. Minha admiração e respeito.

Sou grata também à coorientadora do projeto, Jossimara Polettini, pelo apoio e pela colaboração durante todo o trabalho.

Aos professores, Ivana Loraine Lindemann e Gustavo Olszanski Acrani, por compartilharem seus conhecimentos e nos auxiliarem durante a elaboração e execução do projeto de pesquisa.

Ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, e a todos meus professores, aos quais devo o conhecimento que pude ter ao longo dessa etapa.

O meu muito obrigada a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação.

RESUMO

Trata-se de um Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), realizado pela acadêmica Jéssica Klein, orientado pela professora Daniela Augustin Silveira e co-orientado pela professora Jossimara Polettini, elaborado conforme as normas do Manual de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal da Fronteira Sul, em conformidade com o Regulamento de TCC do Curso de Graduação em Medicina do campus Passo Fundo. Esse trabalho foi desenvolvido durante o quinto, sexto e sétimo semestres do curso de Medicina nos componentes curriculares de Pesquisa em Saúde, TCC I e TCC II, quando foram realizadas as etapas de escrita do projeto, execução e apresentação dos resultados e versão final, respectivamente. O objetivo do presente estudo é identificar a prevalência de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres que realizaram o exame citopatológico em meio líquido, cuja amostra foi submetida ao exame molecular de Reação em Cadeia da Polimerase para identificação da presença dos microrganismos de interesse. O estudo será realizado no período entre abril e dezembro de 2019, com coleta de dados referentes ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018 disponíveis no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo em Passo Fundo - RS. As positivities de *U. urealyticum* e *M. hominis* serão relacionadas aos dados de idade, estado civil e escolaridade das pacientes incluídas no estudo.

Palavras-chave: Micoplasma; Ureaplasma; Infecções do trato genital feminino.

ABSTRACT

This is a Final Term Paper, carried out by the academic Jéssica Klein, supervised by Professor Daniela Augustin Silveira and co-supervised by Professor Jossimara Poletini, prepared according to the Manual of Academic Works norms of the Universidade Federal da Fronteira Sul, in accordance with the Final Term Paper Course Regulation of the Undergraduate Medical Course in Passo Fundo campus. This work was developed during the fifth, sixth and seventh semesters of the Medicine course in the Health Research Course, Final Term Paper Course I and Final Term Paper Course II, when the stages of project writing, execution and results presentation were carried out, respectively. The objective of the present study is to identify the prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women who underwent cytopathological examination in a liquid medium, whose sample was submitted to molecular Polymerase Chain Reaction to identify the presence of the microorganisms of interest. The study will be carried out between April and December 2019, with data from January 2015 to December 2018 available at the Pathology Laboratory of Hospital São Vicente de Paulo in Passo Fundo - RS. The positivities of *U. urealyticum* and *M. hominis* will be related to the data of age, marital status and schooling of patients included in the study.

Keywords: Mycoplasma; Ureaplasma; Female genital tract infections.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	09
2.	DESENVOLVIMENTO	11
2.1	PROJETO DE PESQUISA	11
2.1.1	Resumo	11
2.1.2	Tema	11
2.1.3	Problema	12
2.1.4	Hipóteses	12
2.1.5	Objetivos	12
2.1.5.1	Objetivo geral	12
2.1.5.2	Objetivos específicos	12
2.1.6	Justificativa	13
2.1.7	Referencial teórico	13
2.1.8	Metodologia	17
2.1.8.1	Tipo de estudo	17
2.1.8.2	Local e período de realização	17
2.1.8.3	População e amostragem	17
2.1.8.4	Critérios de seleção	17
2.1.8.5	Variáveis e instrumentos de coleta de dados	17
2.1.8.6	Logística e estudo piloto	17
2.1.8.7	Processamento, controle de qualidade e análise de dados	18
2.1.9	Aspectos éticos	18
2.1.10	Recursos	19
2.1.11	Cronograma	20
2.1.12	Referências	21
2.1.13	Apêndices	24
2.1.13.1	APÊNDICE 1: Ficha de transcrição	24
2.1.13.2	APÊNDICE 2: Solicitação de dispensa do termo de consentimento	25
2.1.13.3	APÊNDICE 3: Termo de compromisso para uso de dados em arquivo	27
2.1.14	Anexos	29
2.1.14.1	ANEXO 1: Termo de concordância da instituição	29
2.2	RELATÓRIO DA PESQUISA	30

3.	ARTIGO	31
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
5.	ANEXOS	43
5.1	ANEXO 1: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	43
5.2	ANEXO 2: INSTRUÇÕES REDATORIAIS	46

1. INTRODUÇÃO

O trato genital feminino é um local apropriado para o crescimento e a proliferação de vários organismos. Diversos microrganismos podem afetar qualquer parte do trato geniturinário e causar infecções, dentre eles, tem sido encontrados o *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*. Além disso, as complicações relacionadas com esses microrganismos, tais como gravidez ectópica, obstrução da tuba uterina, infertilidade, frequentes abortos, são devastadoras para as mulheres (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

Com o desenvolvimento da citologia ginecológica em meio líquido, há algumas décadas, a qual propicia a preservação das células epiteliais da amostra genital, viáveis em solução de preservação, por um período de meses, tem-se detectado a presença de *M. hominis* e *U. urealyticum*, uma vez que na citologia ginecológica através do método convencional (método do esfregaço) esses microrganismos não podem ser identificados pois uma vez coletada a amostra genital as células são fixadas na lâmina perdendo sua integridade. A importância em identificar esses microrganismos no trato genital feminino deve-se a possibilidade deles estarem relacionados com infecções graves tanto nas mães quanto nos recém-nascidos que podem contrai-las tanto intra-útero quanto no momento do parto (CAPOCCIA *et al.*, 2013).

O contato sexual é apontado como o principal modo de transmissão para ambos os microrganismos e o número crescente de parceiros sexuais aumenta acentuadamente o risco de colonização. Após a puberdade, a incidência de micoplasmas genitais aumenta relacionando-se diretamente com a atividade sexual (MURRAY, ROSENTHAL, PFALLER, 2014).

As espécies de mycoplasma e ureaplasma são os menores organismos que podem viver e proliferar de forma independente em meios artificiais (LONGO *et al.*, 2017). Eles não têm parede celular e sua membrana plasmática contém esteróis. A ausência da parede celular permite resistência à penicilinas, cefalosporinas, vancomicinas e outros antibióticos que interferem na síntese da parede celular. São caracterizados por aspecto pleomórfico, variando de formas cocoides a bacilos. Dividem-se por fissão binária e apresentam crescimento lento, com tempo de geração de 1 a 16 horas, sendo que a maioria forma colônias pequenas difíceis de serem detectadas sem incubação prolongada. O *M. hominis* é um anaeróbio facultativo que cresce em 1 a 4 semanas e metaboliza a arginina, porém não a glicose. Forma grandes colônias, com aparência semelhante a ovo frito devido ao seu centro mais denso e suas áreas

externas mais pálidas. O *U. urealyticum* precisa de ureia para o crescimento, porém é inibido pela intensa alcalinidade gerada pelo metabolismo da ureia. Dessa forma, é necessário que o meio seja fortemente tamponado (MURRAY, ROSENTHAL, PFALLER, 2014; VIJAYAN *et al.*, 2017).

Os testes de reação em cadeia pela polimerase (PCR) foram desenvolvidos para todas as espécies patogênicas de micoplasma e ureaplasma. Apresentam excelente sensibilidade, porém a especificidade não está bem esclarecida (MURRAY, ROSENTHAL, PFALLER, 2014).

Através da PCR em tempo real, será permitido o monitoramento da reação de amplificação em tempo real (ciclo a ciclo), em sistema fechado, evitando interferências externas no progresso da reação. Haverá a detecção de um sinal fluorescente em proporção ao aumento da quantidade do produto de amplificação. Essa fluorescência é emitida por compostos fluoróforos, que podem estar ligados a sondas ou intercalados na dupla fita do DNA amplificado. As sondas são sequências de DNA que se ligam à região central da sequência-alvo e aumentam a seletividade do método (BARROS *et al.*, 2008).

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 PROJETO DE PESQUISA

2.1.1 Resumo

A estrutura anatômica do trato genital feminino o torna mais suscetível a doenças infecciosas ocasionadas por microrganismos patogênicos. Micoplasmas e ureaplasmas são encontrados com frequência em mulheres sexualmente ativas, e têm sido relacionados com o desenvolvimento de doença inflamatória pélvica crônica, infertilidade, prematuridade e gestação ectópica. Como o trato geniturinário feminino é colonizado por diversas bactérias, é difícil determinar o papel desses organismos na doença de uma paciente. Diante dessa situação, acredita-se que seja pertinente a realização de um estudo que tenha como objetivo avaliar a frequência dessas bactérias e verificar se há uma relação com as doenças mencionadas. Trata-se de um estudo transversal de levantamento de dados através do sistema de informações do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo em Passo Fundo – RS, que será realizado no período de abril de 2019 a dezembro de 2019, com coleta de dados referentes ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018. Terá uma população constituída de mulheres adultas submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular (PCR em tempo real) para pesquisa de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*. Serão consideradas variáveis quantitativas dependentes: positividade para micoplasmas e/ou ureaplasmas. Serão consideradas variáveis quantitativas independentes: idade, estado civil, escolaridade. Espera-se encontrar um número elevado de pacientes infectadas por *M. hominis* e *U. urealyticum* e uma positividade maior desses microrganismo em pacientes mais jovens.

Palavras-chave: Micoplasma; ureaplasma; Infecções do trato genital feminino.

2.1.2 Tema

Prevalência de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em amostras de citologia ginecológica em meio líquido, identificados pela técnica de reação em cadeia de polimerase.

2.1.3 Problema

Qual a prevalência de infecções por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em pacientes que foram submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular (PCR em tempo real)?

2.1.4 Hipóteses

Aproximadamente, 15 % das mulheres sexualmente ativas são colonizadas por *M. hominis* e 45 % a 75% das mulheres sexualmente ativas são colonizadas por *U. urealyticum*.

A positividade de *U. urealyticum* e *M. hominis* é maior em pacientes mais jovens.

Existe relação entre infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*, o estado civil e a escolaridade das pacientes.

Há concomitância de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* nas pacientes.

2.1.5 Objetivos

2.1.5.1 Objetivo Geral

Identificar a prevalência de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres que realizaram o exame citopatológico em meio líquido cuja amostra foi submetida ao exame de PCR.

2.1.5.2 Objetivos específicos

Verificar a prevalência da infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

Verificar a distribuição da infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* de acordo com a idade das pacientes.

Verificar a distribuição da infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* de acordo com o estado civil e escolaridade das pacientes.

Verificar a concomitância de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* nas pacientes.

2.1.6 Justificativa

Mesmo sendo infecções muito prevalentes, passam despercebidas por serem pouco sintomáticas ou até mesmo assintomáticas, progredindo sem o devido tratamento (PENNA *et al.*, 2005). A falta de recursos financeiros e técnicos para realizar um bom diagnóstico laboratorial, dificultou e retardou as suas pesquisas epidemiológicas e terapêuticas no Brasil. Entretanto, deve-se considerar a importância que essas infecções do trato genital desempenham no contexto da vida reprodutiva da mulher, principalmente no envolvimento significativo das suas complicações e no período gestacional onde suas consequências podem ser notadamente marcadas por comprometer o bem estar materno-fetal (TIBALDI *et al.*, 2016).

Dessa forma, podemos observar a grande importância clínica desses patógenos para o trato genital feminino. Devido ao grande aumento da prevalência e incidência dessas infecções em nosso país, acreditamos na necessidade de maiores estudos que relatem a frequência dos mesmos, circunstância que nos instigou na realização dessa pesquisa (FRIAS *et al.*, 2001).

2.1.7 Referencial teórico

Os micoplasmas genitais podem induzir abortos espontâneos, corioamnionite, pneumonia congênita, doenças pulmonares crônicas e meningite em recém-nascidos (SWEENEY *et al.*, 2017; SOBOUTI *et al.*, 2014; CAPOCCIA *et al.*, 2013). Além disso, essas espécies podem levar ao trabalho de parto prematuro (MACHADO *et al.*, 2001; GRATTARD *et al.*, 1995). O *M. hominis* presente nos casos de abortamento e trabalho de parto prolongado, aumenta a possibilidade de infecção pós-aborto e pós-parto, incluindo a corioamnionite (CAMANO, SANTOS, BERTINI, 1998).

Os micoplasmas são altamente prevalentes, podem ser assintomáticos e estão presentes em até 80% das mulheres com vaginose bacteriana, embora o papel exato dos mesmos não esteja totalmente elucidado. A vaginose bacteriana é caracterizada por um corrimento de odor fétido, resultante da substituição da flora vaginal normal por uma flora mista e complexa de germes, que inclui a *Gardnerella vaginalis*, várias bactérias anaeróbias e também o *M. hominis*. Parece que a ação dos micoplasmas na vaginose bacteriana seria decorrente da sua relação simbiótica com os outros microrganismos envolvidos (SIMÕES, GIRALDO, 1998). Na vagina o *M. hominis* atinge crescimento ótimo em pH alcalino, em

condições aeróbicas, enquanto os ureaplasmas preferem meio ácido (pH acima de 6,5) e ambiente anaeróbio (CAMANO, SANTOS, BERTINI, 1998). Podem ser identificados em abscessos das glândulas de Bartholin, em vulvovaginites e anexites.

Os ureaplasmas são os microrganismos mais comumente isolados no líquido amniótico e na placenta de mães de recém-nascidos prematuros (FONSECA, SILVEIRA, PROCIANOY, 2011). Em um estudo de 2012, o *U. urealyticum* e o *M. hominis* foram os agentes isolados com a maior frequência na placenta e no líquido amniótico de pacientes que evoluíram com ruptura prematura de membranas e trabalho de parto prematuro, ocorrendo em 62,7% e 12,7% dos casos, respectivamente (CHOI *et al.*, 2012). A infecção em grávidas possibilita a disseminação do microrganismo para o feto ou recém-nascido (GALVÃO, SOUZA, 2013).

Os ureaplasmas são isolados com maior frequência no colo do útero do que na urina, já o *M. hominis* é encontrado com aproximadamente a mesma frequência nesses dois locais. Têm sido demonstradas taxas de colonização vaginal de 40 a 80% por ureaplasmas em mulheres assintomáticas sexualmente ativas, e de 21 a 70% para o *M. hominis*. Os dois microrganismos são encontrados concomitantemente em 31 a 60% das mulheres (LONGO *et al.*, 2017). Isso depende da idade, raça, atividade sexual e nível socioeconômico das mulheres (CAPOCCIA *et al.*, 2013). São mais comuns nas mulheres grávidas do que nas não grávidas, e ainda menos frequentes nas menopausadas, reforçando a possível influência dos hormônios sexuais na colonização do aparelho genital feminino (BAYRAKTAR *et al.*, 2010).

Com relação ao *U. urealyticum*, relatou-se que o número de parceiros sexuais é um fator implicado no aumento das taxas de identificação do agente, isolando o germe em 6% das mulheres sem atividade sexual, passando para 75% naquelas com três ou mais parceiros. Isto se deve ao progressivo aumento da promiscuidade sexual na população em geral, principalmente entre os mais jovens, sem a devida precaução a essas infecções (MC CORMACK, ROSNER, 1986). Além disso, podem resultar em esterilidade na mulher e predispor à gravidez ectópica (TIBALDI *et al.*, 2016). Além do mais, é importante saber que mulheres saudáveis também podem ser colonizadas por *U. urealyticum* (GRATTARD *et al.*, 1995; HILL, 1993).

Nas mulheres os micoplasmas podem penetrar no canal cervical e dali ascender, provocando endometrite subclínica. Esta cria um ambiente hostil para a nidação do ovo fecundado causando, portanto, infertilidade, esterilidade e conseqüente gravidez ectópica ou

aborto habitual (FRIAS *et al.*, 2001). Porém não se tem certeza de que os micoplasmas sejam capazes de determinar modificações tubéreas (CAMANO, SANTOS, BERTINI, 1998).

O trato urinário, de modo geral, é invadido a partir do exterior através da uretra, sendo a urina uma importante forma de defesa contra microrganismos invasores. Normalmente, a urina contida na bexiga é estéril, e patógenos bem-sucedidos aderem ao epitélio urinário. As mulheres possuem 10 vezes mais infecções do trato urinário do que os homens, sendo que a anatomia desempenha um importante papel na infecção, pois a distância entre a bexiga urinária e a pele (isto é, o comprimento da uretra) é de 5 cm na mulher, contrastando com 20 cm no homem. A obstrução do fluxo urinário ou refluxo pode comprometer as defesas normais e aumentar a suscetibilidade do trato urinário às infecções (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2016).

A Reação em Cadeia da Polimerase ou PCR é uma técnica de biologia molecular, através da qual se investiga a presença de fragmentos de DNA ou RNA de microrganismos a serem detectados em uma amostra de células, a partir de um molde de DNA/RNA correspondente, marcado (denominado primer) (ROBBINS, 2016). Existem atualmente diferentes técnicas de PCR, a saber: a PCR convencional, PCR em tempo real (para detecção e quantificação), nested PCR (nova ampliação com um segundo conjunto de primers) e PCR multiplex, os quais foram usados para a detecção de microrganismos genitais (CAPOCCIA *et al.*, 2013).

Os métodos baseados em PCR ganharam força em termos de uso para fazer detecção rápida, específica e sensível de patógenos. Há pouco tempo, desenvolveu-se um novo modelo fluorogênico baseado em PCR, que utiliza uma sonda fluorogênica interna específica do gene alvo. No decorrer do ensaio de PCR, o gene alvo será amplificado e simultaneamente reconhecido e acompanhado pela porção fluorogênica da sonda. O aumento da fluorescência poderá ser usado para monitorar a amplificação do DNA alvo (RANJBAR, *et al.*, 2014).

Um estudo foi feito em 2010 e comparou a cultura de microrganismos com PCR convencional e uma nova PCR multiplex em tempo real específica para cada espécie. A PCR em tempo real detectou 15,2% a mais de amostras positivas do que a cultura em crescimento de microrganismos (24,2 versus 39,4%). Entre as culturas positivas para o ureaplasma, o ensaio multiplex de PCR em tempo real reduziu os resultados falso-negativos de 9,3 para 3,1% em comparação com a PCR tradicional (XIAO *et al.*, 2010).

Em outro estudo que comparava a especificidade entre PCR em tempo real (TaqMan®) e PCR convencional, observou-se que a especificidade do PCR em tempo real é semelhante a do PCR convencional, porém o PCR em tempo real apresentou maior sensibilidade que o PCR convencional. Dessa forma, o uso de PCR em tempo real parece promissor devido à sua alta sensibilidade para a detecção segura, rápida e específica (RANJBAR, *et al.*, 2014).

Em 2016, outro estudo comparou a análise de PCR em tempo real de amostras de swab nasofaríngeo e amostras de escarro com métodos convencionais para o diagnóstico de pneumonia adquirida na comunidade em adultos japoneses, incluindo os que já haviam sido tratados com antibióticos. Sabe-se que o uso prévio de antibióticos reduz sensibilidade das culturas, assim a baixa taxa de identificação de bactérias comuns usando métodos convencionais pode ser atribuída ao tratamento anterior com antibióticos. No estudo, foi sugerido que PCR em tempo real poderia detectar esses patógenos até mesmo de fragmentos residuais de DNA microbiano em pacientes que já haviam usado antibióticos. Usando PCR em tempo real abrangente para os 92 pacientes, a taxa de detecção de patógenos foi de 72% (66 pacientes), enquanto que a taxa de detecção usando métodos convencionais foi de 57% (52 pacientes). Além disso, infecções mistas foram detectadas com mais frequência por PCR em tempo real abrangente do que pelos métodos convencionais (26% ou 24 pacientes vs. 4% ou 4 pacientes). Em pacientes que tiveram tratamento antibiótico prévio, a taxa de detecção de patógenos pelos métodos convencionais foi aproximadamente 10% menor do que a dos pacientes que não tinham antibióticos. A taxa abrangente de detecção de PCR em tempo real para pacientes que tomaram antibióticos foi significativamente maior que a taxa obtida pelos métodos convencionais (77% ou 23 pacientes versus 50% ou 15 pacientes). Em conclusão, um dos principais achados do estudo é que a taxa de detecção de patógenos por PCR em tempo real foi significativamente maior quando comparado aos métodos convencionais de cultura, em pacientes com tratamento antibiótico, mantendo alta sensibilidade, independentemente do uso prévio de antibióticos (YOSHII *et al.*, 2016).

A detecção molecular de *M. hominis* por PCR é altamente sensível e específica quando comparada à cultura e pode facilitar um diagnóstico mais rapidamente (VIJAYAN *et al.*, 2017).

2.1.8. Metodologia

2.1.8.1 Tipo de estudo

Estudo quantitativo observacional, do tipo transversal descritivo e analítico.

2.1.8.2 Local e período de realização

O estudo será realizado no período entre abril e dezembro de 2019, no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo em Passo Fundo - RS.

2.1.8.3 População e amostragem

A população do estudo se constitui de mulheres adultas submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular (PCR em tempo real) para pesquisa de *U. urealyticum* e *M. hominis*, atendidas no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018. A amostragem utilizada será não probabilística selecionada por conveniência. Estima-se a inclusão de aproximadamente 4.000 pacientes.

2.1.8.4 Critérios de Seleção

Serão incluídas todas as pacientes de qualquer idade e procedência que realizaram o exame molecular para pesquisa de *U. urealyticum* e *M. hominis* no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018.

2.1.8.5 Variáveis e instrumentos de coleta de dados

Serão consideradas variáveis quantitativas dependentes: positividade para micoplasmas e/ou ureaplasmas. Serão consideradas variáveis quantitativas independentes: idade, estado civil, escolaridade e resultado do exame citopatológico.

Os dados serão coletados através do cadastro das pacientes no sistema e dos laudos dos exames de citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular (PCR em tempo real) para pesquisa de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

2.1.8.6 Logística e estudo piloto

A coleta de dados será realizada semanalmente, por meio da análise dos dados disponíveis no sistema informatizado de registro de exames do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo. A acadêmica da equipe de pesquisa se encaminhará ao laboratório em todas as segundas-feiras, no horário das 08h30min às 12h30min, horário este em que haverá um computador disponível no laboratório para uso da acadêmica a qual receberá uma senha de acesso ao sistema. A logística será combinada com a equipe do local para não interferir nas atividades do setor. Os dados serão transcritos para uma ficha de dados (apêndice 1).

2.1.8.7 Processamento, controle de qualidade e análise de dados

Os dados serão duplamente digitados, em diferentes dias, para aumentar a precisão do estudo, para que, assim, se evite o viés. Para tal, será utilizado o programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). A análise estatística será feita no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre) e compreenderá distribuição de frequências, absoluta e relativa, das variáveis categóricas. Para avaliar a relação das variáveis dependentes e independentes será feita a análise do teste Qui-quadrado com um intervalo de confiança de 95%.

2.1.9 Aspectos éticos

Em relação aos aspectos éticos o presente estudo será submetido primeiramente à Comissão de Pesquisa e Pós-Graduação do HSVP e após aprovação, será enviado para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Todos os preceitos éticos estabelecidos serão respeitados zelando pela legitimidade, privacidade e sigilo das informações, quando necessárias, tornando os resultados desta pesquisa públicos.

No Anexo 1 encontra-se o termo de concordância do Hospital São Vicente de Paulo, através do qual será realizada a pesquisa. Além disso, no apêndice 2 está a solicitação de dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) necessário visto que o estudo é baseado em dados de prontuários eletrônicos, os pacientes não são acompanhados regularmente pelo hospital. No apêndice 3 está o termo de compromisso para uso de dados em

arquivo, necessário para afirmar o comprometimento da equipe em preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados.

Como a equipe terá acesso aos dados em prontuário eletrônico, existe o risco de o paciente ter seus dados de identificação revelados. Para que este risco seja minimizado, o nome será substituído pelo número na ficha de dados. No caso de o risco se concretizar, o estudo será interrompido.

Não haverá benefícios diretos às participantes do estudo, pois as mesmas foram informadas dos resultados e já foram submetidas ao devido tratamento. Porém, o estudo beneficiará indiretamente outras mulheres, pois permitirá o melhor entendimento da distribuição dos microrganismos estudados na região, e assim, direcionará os profissionais da saúde ao permitir maior conhecimento dessas infecções, além de possibilitar o planejamento de novas ações que visem melhor manejo dos pacientes, através da divulgação dos resultados obtidos na pesquisa em eventos e/ou publicações científicas mantendo o sigilo dos dados pessoais.

O presente trabalho, escrito pelas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), possui todas as autorias das citações referenciadas conforme a lei 9610 que rege a questão dos direitos autorais vigente no Brasil com objetivo de evitar plágio.

2.1.10 Recursos

Itens de Custeio/Materiais de Consumo	Quantidade	Valor Unitário (R\$)	Valor total (R\$)	Especificação
Folhas A4	2.000	25,00	100,00	-
Número de cópias (xerox)	2.000	0,15	300,00	-
Subtotal (Itens de custeio)			400,00	
Itens de Capital Material Permanente	Quantidade	Valor Unitário (R\$)	Valor total (R\$)	Especificação
Caneta esferográfica	02	3,00	6,00	Bic
Subtotal (Itens de capital)			6,00	
TOTAL DO ORÇAMENTO			406,00	

Todas as despesas serão custeadas pela equipe de pesquisa.

2.1.12 Referências

- BARROS, N. E; OLIVEIRA, E. M. M; MARIN, V. A. **Aplicabilidade da metodologia de reação de polimerase em cadeia em tempo real na determinação do percentual de organismos geneticamente modificados em alimentos.** Rev. Nutr. vol.21, no.1, Campinas, Jan./Feb. 2008.
- BAYRAKTAR, M.R. et al. **Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women.** Int J Infect Dis, 2010.
- CAMANO, L.; SANTOS, J. F. K.; BERTINI, A. M. **Micoplasma.** Jornal Brasileiro de Ginecologia, v. 98, n. 7, p. 369-71, São Paulo, jul.1998.
- CAPOCCIA, R. et al. **Mycoplasmas and adverse pregnancy outcomes.** Current Opinion Infection Diseases. v. 26, n. 3, p. 231-240, junho de 2013.
- CHOI, S.J. et al. **The Prevalence of Vaginal Microorganisms in Pregnant Women with Preterm Labor and Preterm Birth.** Ann Lab Med. v. 32, p. 194-200, 2012.
- FONSECA, L.T.; SILVEIRA, R.C.; PROCIANOY, R.S. **Ureaplasma bacteremia in very low birth weight infants in Brazil.** Pediatr Infect dis J. v. 30, n. 5, p. 1.052, 2011.
- FRIAS, M. et al. **Frequência de *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* na endocérvice de mulheres no menacme.** DST – J bras Doenças Sex Transm., v. 13, n. 2, p.5-22, 2001.
- GALVÃO, N.A; SOUZA, E.L. **Micoplasmas Genitais e seu Papel em Infecções Respiratórias em Recém-nascidos.** Pulmão, v.22, n.3, p.53-57, Rio de Janeiro, 2013.
- GRATTARD, F. et al. **Epidemiologic and molecular investigations of genital mycoplasmas from women and neonates at delivery.** The Pediatric Infectious Disease Journal, v. 14, n.10, p. 853-8, out. 1995.
- HILL, Gale B. **The microbiology of bacterial vaginosis.** Am. J. Obstet Gynecol. v. 169, n. 2, p. 450-4, ago. 1993.
- LONGO, D.L. et al. **Harrison Medicina Interna**, v.2. 19ª. Edição. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 1165.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran. **Bases Patológicas das Doenças**. 9ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 177.

MACHADO, A. A. et al. **Frequency of *Mycoplasma hominis* and *ureaplasma urealyticum* infections in women with systemic lupus erythematosus**. Rev Soc Bras Med Trop. v. 34, p.243-7, 2001.

MC CORMACK, W.M; ROSNER, B. **Vaginal colonization with *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum***. Sex.Transm. Dis. v.13, p.67-70, 1986.

MURRAY. PR; ROSENTHAL. KS; PFALLER MA. **Microbiologia Médica**. 7ª.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p.364-367.

PENNA, I. A. et al. **Frequência de infecção pelo *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* em mulheres inférteis e relação com repercussões clínicas**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. Rio de Janeiro, v.27, n.2, Fev, 2005.

RANJBAR, R. et al. **Use of Taqman® Real-Time PCR for Rapid Detection of *Salmonella* Enterica Serovar Typhi**. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. v. 61, n. 2, p. 121–130, fev 2014.

RODRIGUEZ, R. et al. **Infecção genital y esterilidad**. Enferm Infecc Microbiol Clin. v. 19, p. 261-6, 2001.

SIMÕES, J. A; GIRALDO, P.C. **O corrimento vaginal durante a gravidez**. J. Bras. Doenças Sex. Transm. v. 10, n.5, p. 20-30, 1998.

SOBOUTI, B. et al. **Colonization of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women and their transmission to offspring**. Jornal Iraniano de Microbiologia, v. 6, n. 4, p.219-224, 2014.

SWEENEY, E.L. et al. **The Human *Ureaplasma* Species as Causative Agents of Chorioamnionitis**. Clin Microbiol Rev. v.30, p. 349–379, 2017.

TIBALDI, C. et al. **Maternal risk factors for abnormal vaginal flora during pregnancy**. International Journal of Gynecology and Obstetrics. v. 133, p. 89–93, 2016.

VIJAYAN, V. et al. **Pelvic Abscess Secondary to *Mycoplasma hominis* following Vaginal Laceration**. Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology, 2017.

XIAO, L. et al. **Detection and characterization of human ureaplasma species and serovars by real-time PCR**. J Clin Microbiol. v. 48, p. 2.715-2.723, 2010.

YOSHII, Y et al. **Identification of pathogens by comprehensive real-time PCR versus conventional methods in community-acquired pneumonia in Japanese Adults**. Journal of Infectious Diseases. Jun, 2016.

2.1.13. Apêndices

2.1.13.1 Apêndice 1

Ficha de Transcrição de Dados

DETECÇÃO DE <i>Ureaplasma urealyticum</i> E <i>Mycoplasma hominis</i> POR REACÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO	
Número do questionário:	nques_____
Idade:	idad__
Escolaridade: (1) 2º grau completo (2) 2º grau incompleto (3) Ensino superior	escol_
Estado civil: (1) Com companheiro (2) Sem companheiro	ecvil_
Citopatológico: (1) Normal (2) Inflamatório (3) Ascus (4) Lesão de baixo grau NIC I (5) Lesão de alto grau NIC II eIII	citop_
Resultado da análise	
Ureaplasma (1) Positivo (2) Negativo	urea_
Mycoplasma (1) Positivo (2) Negativo	myco_
Ureaplasma e Mycoplasma (1) Positivo (2) Negativo	uremy_

2.1.13.2 Apêndice 2

Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) solicitação de dispensa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA

DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO

Esta pesquisa será desenvolvida por Jéssica Klein, discente de Graduação em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Passo Fundo, sob orientação da Professora Me. Daniela Augustin Silveira.

O objetivo principal do estudo é identificar a prevalência de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres adultas submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular (PCR em tempo real) entre o período de janeiro de 2015 a dezembro 2018, no setor de patologia do Hospital São Vicente de Paulo. Além disso, pretende-se relacionar as infecções ocasionadas por esses microrganismos com a idade das pacientes, avaliar se a positividade é mais frequente em pacientes mais jovens e analisar o resultado do exame citopatológico.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações obtidas. Como a equipe terá acesso aos dados em prontuário eletrônico, existe o risco de o paciente ter sua identidade revelada. Para que este risco seja minimizado, o nome será substituído pelo número.

Não haverá benefícios diretos às participantes do estudo, pois as mesmas foram informadas dos resultados e já foram submetidas ao devido tratamento. Porém, o estudo beneficiará indiretamente outras mulheres, pois permitirá o melhor entendimento da distribuição dos microrganismos estudados na região, e assim, direcionará os profissionais da saúde ao permitir maior conhecimento dessas infecções, além de possibilitar o planejamento de novas ações que visem melhor manejo dos pacientes, através da divulgação dos resultados obtidos na pesquisa em eventos e/ou publicações científicas mantendo o sigilo dos dados pessoais.

As informações serão utilizadas para realização de um estudo quantitativo, observacional, transversal, descritivo e analítico com intuito de análise e percepção de dados obtidos em laudos e cadastro informatizado das pacientes. Os dados serão obtidos por meio do preenchimento de

uma ficha de transcrição, que objetiva reunir dados socioeconômicos e o resultado da reação de PCR em tempo real para os microrganismos do estudo. Enfatiza-se que a coleta de dados iniciará somente com a ciência e concordância do hospital e aprovação do protocolo de pesquisa e do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS, conforme Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) Devido à importância da pesquisa e com base na Resolução CNS N° 466 de 2012 – IV.8, solicito a dispensa da obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pois o estudo é baseado em dados de laudos e cadastro informatizado das pacientes.

Passo Fundo, ____ de _____ de 2018.

Prof^ª. Me. Daniela Augustin Silveira

Pesquisadora responsável

2.1.13.3 Apêndice 3

Termo de compromisso para uso de dados em arquivo

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS PASSO FUNDO
CURSO DE MEDICINA**

TERMO DE COMPROMISSO PARA USO DE DADOS EM ARQUIVO

**Título da pesquisa: DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis*
POR REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO /
MEIO LÍQUIDO**

O(s) pesquisador(es) do projeto acima identificado(s) assume(m) o compromisso de:

- I. Preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados;
- II. Assegurar que as informações serão utilizadas únicas e exclusivamente para a execução do projeto em questão;
- III. Assegurar que as informações somente serão divulgadas de forma anônima, não sendo usadas iniciais ou quaisquer outras indicações que possam identificar o sujeito da pesquisa.

Prof^ª. Me. Daniela Augustin Silveira

Prof.^a. Dra. Jossimara Polettini

Acadêmica Jéssica Klein

Passo Fundo, 04 de outubro de 2018.

2.1.14 Anexos

2.1.14.1 Anexo 1

Termo de concordância do Hospital São Vicente de Paulo

HOSPITAL SÃO VICENTE DE PAULO



Passo Fundo, 17 de dezembro de 2018.

Parecer

Autor(a): Jéssica Klein

Orientador(a): Dra. Daniela Augustin Silveira

Responsável HSVP: Dra. Daniela Augustin Silveira

Caros Pesquisadores,

A Comissão de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital São Vicente de Paulo analisou seu projeto intitulado: **"DETECCÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO/MEIO LÍQUIDO"** e aprovou o estudo.

Queremos lembrar da necessidade de o pesquisador e o responsável junto à instituição manterem o Instituto de Educação Ensino e Pesquisa do Hospital São Vicente de Paulo atualizado sobre o desenvolvimento do projeto dentro do Hospital, informando sobre a aprovação na Plataforma Brasil e também sobre publicações ou apresentações dos resultados desta pesquisa (relatórios parciais e finais deverão ser encaminhados a este setor), inserindo o HSVP nas publicações advindas deste projeto.

O Instituto agradece a iniciativa em pesquisar no Hospital Ensino São Vicente de Paulo e deseja um ótimo trabalho aos pesquisadores, ressaltando que sejam cumpridas as normas regulamentares do HSVP e da Resolução CNS 466/12.

Atenciosamente

Alexandre Pereira Tognon, MD, PhD

Diretor

*Instituto de Educação Ensino e Pesquisa
Hospital São Vicente de Paulo*

Valéria Sumye Mi Bri.
Valéria Sumye Milani

*Comissão de Pesquisa e Pós-Graduação
Hospital São Vicente de Paulo*

2.2. RELATÓRIO DE PESQUISA

O Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) sobre Detecção de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* por Reação em Cadeia de Polimerase em exame citopatológico/meio líquido, tem sido realizado pela acadêmica de medicina da UFFS Jéssica Klein e coordenado pela professora Daniela Augustin Silveira. O trabalho de campo desse estudo teve início em abril de 2019, após aprovação do Comitê de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital São Vicente de Paulo em dezembro de 2018 e após submissão e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS em abril de 2019. Antes da aprovação do projeto foram realizados alguns ajustes sugeridos pelo CEP, citados abaixo:

1. Reescrever o desfecho primário (detalhar o que se espera com a realização do estudo).
2. Anexar o Termo de Ciência e Concordância das Instituições.
3. Apresentar o Termo de Compromisso para Uso de Dados em Arquivo.

Foi possível perceber que o número de pacientes que serão analisadas na pesquisa é menor que o programado, uma vez que estava previsto pesquisar os laudos de exames citopatológicos em meio líquido submetidos ao exame de PCR dos quatro anos anteriores (2015-2018). Entretanto, devido à limitação de tempo durante o período da coleta de dados, não foi possível verificar todos os laudos que a equipe de pesquisa havia planejado. Dessa forma, foram analisados apenas aqueles emitidos nos anos de 2017 e 2018.

A coleta inicial dos dados das 1197 pacientes foi encerrada no final de julho de 2019. Logo após, iniciou-se a dupla digitação dos dados coletados com o objetivo de diminuir as chances de erro.

Ao final do mês de agosto, terminada a dupla digitação, as duas planilhas foram submetidas a uma comparação no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre), e todos os dados identificados como diferentes entre essas planilhas foram conferidos e corrigidos.

Com a comparação dos dados encerrada, foi realizada a análise estatística dos dados e a redação dos resultados encontrados na pesquisa. Para fazer a distribuição de frequências e a análise dos resultados foi utilizado o programa PSPP (distribuição livre), o qual avaliou a relação das variáveis dependentes e independentes pelo Teste de Qui-quadrado, considerando-se um nível de significância estatística de 5%.

Por fim, após o estudo dos dados coletados, foi iniciada a elaboração do texto com os resultados obtidos da pesquisa sendo realizadas reuniões quinzenais entre a pesquisadora e o professor orientador do projeto.

3. ARTIGO

DETECÇÃO DE *Ureaplasma urealyticum* E *Mycoplasma hominis* POR REACÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM EXAME CITOPATOLÓGICO / MEIO LÍQUIDO

***Ureaplasma urealyticum* AND *Mycoplasma hominis* DETECTION BY REAL TIME PCR USING LIQUID-BASED CERVICAL CYTOLOGY**

Jéssica Klein¹, Jossimara Polettini², Daniela Augustin Silveira².

¹Acadêmica de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, RS.

² Docentes da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, RS.

Autor correspondente:

Daniela Augustin Silveira

Rua Capitão Araújo, 20, Centro, CEP 99010-200, Passo Fundo, RS.

danausilveira@gmail.com

*Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

RESUMO

OBJETIVOS: Determinar a prevalência de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres que realizaram o exame citopatológico em meio líquido.

MÉTODOS: Estudo quantitativo observacional, do tipo transversal, no qual foram analisadas amostras de conteúdo cérvico-vaginal de mulheres submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular pela técnica de PCR em tempo real para pesquisa de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*, atendidas em consultórios particulares de Passo Fundo, RS, no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018. A relação entre as variáveis foi avaliada pelo teste do qui-quadrado e o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS: Foram realizados 1197 exames no período avaliado. A média de idade das pacientes foi de 32,9 anos \pm 10,1 anos, variando entre 16 e 92 anos. Em relação ao estado conjugal, 62,1% das pacientes não tinham companheiro, e cerca de 50% cursaram ensino superior completo. Das pacientes estudadas 90,6% não tiveram alterações citopatológicas e 7,9% apresentaram positividade para *U. urealyticum* e 8,1% para *M. hominis*.

CONCLUSÃO: A positividade para os microrganismos estudados se dá em mulheres jovens, a maioria sem repercussão inflamatória ou alterações citológicas epiteliais (90,6%), fato esse que traz grande preocupação em relação a persistência desses microrganismos, de forma assintomática, no trato genital inferior e suas possíveis complicações.

Palavras-chave: Micoplasma; Ureaplasma; Infecções do trato genital feminino.

ABSTRACT

OBJECTIVES: To determine the prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women who underwent cytopathological examination by a liquid-based method.

METHODS: This was a cross-sectional, observational quantitative study in which cervical-vaginal samples from women attended in private practices in Passo Fundo, RS, from January 2017 to December 2018, who underwent liquid gynecological cytology and molecular examination by real-time PCR for *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*.

RESULTS: A total of 1197 exams were performed during the studied period. The average age of the patients was 32.9 years \pm 10.1 years, ranging from 16 to 92 years. Regarding marital status, 62.1% of the patients had no partner, and about 50% had completed higher education. Of the studied patients, 90.6% had no cytopathological changes and 7.9% were positive for *U. urealyticum* and 8.1% for *M. hominis*. **CONCLUSION:** The positivity for the studied microorganisms occurs in young women, the majority without inflammatory

repercussions or epithelial alterations (90.6%), a fact that is of great concern regarding the persistence of these microorganisms, mainly asymptotically, in lower genital tract and its complications.

Keywords: Mycoplasma; Ureaplasma; Female genital tract infections.

INTRODUÇÃO

O microambiente vaginal é constituído por um ecossistema complexo e dinâmico, contendo água, colesterol, lipídios, mucina, carboidratos, aminoácidos, proteínas e sais inorgânicos, que, em conjunto com a comunidade bacteriana local, inibe o crescimento de bactérias não residentes¹. No entanto, desequilíbrios nesse sistema podem promover crescimento e proliferação de vários microrganismos afetando qualquer parte do trato genitourinário e causando infecções. Dentre eles, destacam-se o *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

Estudos demonstram taxas de colonização vaginal de 40 a 80% por *U. urealyticum* em mulheres assintomáticas sexualmente ativas, e de 21 a 70% para o *M. hominis*. Os dois microrganismos são encontrados concomitantemente em 31 a 60% das mulheres², sendo a positividade dependente de variáveis como idade, raça, atividade sexual e nível socioeconômico das mesmas³. Além disso, complicações relacionadas com a presença desses microrganismos, tais como gravidez ectópica, obstrução da tuba uterina, infertilidade, frequentes abortos, são significativas na clínica ginecológica e obstétrica⁴.

Fatores como atividade sexual e alterações de microbiota se relacionam com infecções por ureaplasmas e micoplasmas, dessa forma o número crescente de parceiros sexuais aumenta acentuadamente o risco de colonização. Após a puberdade, a incidência de micoplasmas genitais aumenta relacionando-se diretamente com a atividade sexual⁵. Por outro lado, tais infecções podem ser assintomáticas e a presença desses microrganismos foi identificada em até 80% das mulheres com vaginose bacteriana, uma condição clínica não sexualmente transmissível, e, dessa forma, o papel exato dessas bactérias nas infecções genitais não está totalmente elucidado⁶.

A detecção das espécies de ureaplasmas e micoplasmas pelo método clássico de cultivo microbiológico é fastidiosa, e, nesse contexto, os métodos baseados na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são importantes ferramentas na detecção rápida, específica e

sensível de patógenos. Um estudo feito em 2010 comparou a cultura de microrganismos com a técnica de PCR convencional e uma nova PCR multiplex em tempo real específica para cada espécie. A PCR em tempo real detectou 15,2% a mais de amostras positivas do que a cultura em crescimento de microrganismos (24,2 versus 39,4%). Entre as culturas positivas para o ureaplasma, o ensaio multiplex de PCR em tempo real reduziu os resultados falso-negativos de 9,3 para 3,1% em comparação com a PCR tradicional⁷.

Dessa forma, destaca-se a importância do conhecimento epidemiológico das infecções causadas por ureaplasma e micoplasma, uma vez que podem ser assintomáticas, mas podem interferir em desfechos ginecológicos e obstétricos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi, por meio de busca retrospectiva de dados, estimar os casos positivos desses agentes em material de citologia líquida, através da técnica de PCR em tempo real, bem como associar tais resultados com o exame citopatológico.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal conduzido com mulheres submetidas à citologia ginecológica em meio líquido e exame molecular pela técnica de PCR em tempo real para pesquisa de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*, atendidas em consultórios particulares de Passo Fundo, RS, que tiveram seus exames analisados no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018.

A avaliação do resultado citopatológico foi realizada de acordo com o método de Bethesda⁸ e a presença de *U. urealyticum* e *M. hominis* foi avaliada pelo exame molecular de PCR em tempo real/meio líquido. As informações sociodemográficas como idade, estado civil e escolaridade foram obtidas a partir dos dados do cadastro das pacientes no sistema de registros (TASY) do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo. Além das informações sociodemográficas, foram compiladas informações a respeito do diagnóstico citopatológico dos laudos emitidos, bem como a pesquisa de positividade para *U. urealyticum* e *M. hominis*. Tal positividade foi também correlacionada ao resultado do exame citopatológico das pacientes.

Todos os dados foram coletados diretamente do sistema informatizado de registro de exames do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, e foram duplamente digitados em planilha eletrônica no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre) para o

controle de qualidade. A análise estatística foi feita no programa PSPP (distribuição livre) para distribuição de frequências e da relação das variáveis dependentes e independentes, realizada pelo teste Qui-quadrado com um nível de significância de 95% ($p < 0,05$). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (CAAE: 07997219.7.0000.5564).

RESULTADOS

No período considerado do estudo, foram analisadas 1197 amostras de conteúdo cérvico-vaginal em meio líquido nas quais foi realizada a pesquisa para *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

A média de idade das pacientes foi de 32,9 anos \pm 10,1 anos, variando entre 16 e 92 anos. A faixa etária de 25 a 64 anos é preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para realização do exame citopatológico como método de rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil e, embora as pacientes atendidas em consultórios privados se apresentem em uma variação da faixa etária mais ampla, observa-se que 73,4% dos exames analisados foram realizados em mulheres na faixa etária preconizada pela OMS (Tabela 1).

Em relação ao estado conjugal, 62,1% das pacientes não tinham companheiro, e cerca de 50% cursaram ensino superior completo (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica de mulheres atendidas em clínicas ginecológicas privadas para realização do exame ginecológico preventivo em Passo Fundo, RS, nos anos de 2017 e 2018 (n = 1197).

Variáveis	n (%)
Estado civil	
Com companheiro	454 (37,9)
Sem companheiro	743 (62,1)
Idade	
< 25 anos	302 (25,3)
25 – 64 anos	879 (73,4)
\geq 65 anos	16 (1,3)
Escolaridade	
2º grau completo	337 (28,1)
2º grau incompleto	106 (8,9)
Ensino superior	597 (49,9)
Não informado	157 (13,1)

Em relação ao exame citopatológico, 90,6% das amostras apresentaram resultado dentro da normalidade, seguido de Lesão intraepitelial de baixo grau (LIEBG/NIC 1),

presente em 3,1% das amostras. Além disso, foi observado, em alguns casos, ASCUS, processo inflamatório e Lesão intraepitelial de alto grau (LIEAG/ NIC 2 e 3) (Tabela 2).

Quanto aos microrganismos de interesse, foi observada a positividade de 7,9% para *U. urealyticum* e 8,1% para *M. hominis*, em contrapartida, a co-infecção por essas bactérias foi de apenas 1,8% (Tabela 2).

Tabela 2. Alterações celulares e microbiológicas em amostras de conteúdo cérvico-vaginal coletado em meio líquido de mulheres atendidas em clínicas ginecológicas privadas em Passo Fundo, RS, nos anos de 2017 e 2018 (n = 1197).

Variáveis	n (%)
Resultado Exame Citopatológico	
Normal	1085 (90,6)
Inflamatório	1 (0,1)
Ascus	5 (0,4)
Lesão de baixo grau (LIEBG/ NIC 1)	37 (3,1)
Lesão de alto grau (LIEAG/NIC2 e 3)	3 (0,3)
Não realizado	66 (5,5)
Positividade dos microrganismos	
Ureaplasma	213 (17,8)
Mycoplasma	95 (7,9)
Ureaplasma e Mycoplasma	97 (8,1)
	21 (1,8)

Ao comparar os dados sociodemográficos com a positividade de *U. urealyticum* e *M. hominis*, verificou-se que a condição de ter ou não companheiro não se relacionou com a presença de *U. urealyticum*. No entanto, a ausência de companheiro se relacionou à presença de *M. hominis*. Nas mulheres com idade menor que 25 anos observou-se a positividade significativamente maior de ambos os microrganismos. Referente à escolaridade, pacientes sem o ensino superior tiveram maior positividade (Tabela 3).

Tabela 3. Correlação de dados sociodemográficos e alterações citopatológicas cérvico-vaginais com a positividade de mycoplasma e ureaplasma em mulheres atendidas em clínicas ginecológicas privadas em Passo Fundo, RS, nos anos de 2017 e 2018 (n = 1197).

Variáveis	Positivo n (%)	Negativo n (%)	p*
Ureaplasma			
Estado civil			
Sem companheiro	60 (8,1)	683 (91,9)	0,82
Com companheiro	35 (7,7)	419 (92,3)	
Idade			
< 25 anos	37 (12,3)	265 (87,7)	< 0,001
25 – 64 anos	58 (6,6)	821 (93,4)	

≥ 65 anos	0 (0)	16 (100)	
Escolaridade			
2° grau completo	39 (11,6)	298 (88,4)	0,03
2° grau incompleto	7 (6,6)	99 (93,4)	
Ensino superior	41 (6,9)	556 (93,1)	
Não informado	8 (5,1)	149 (94,4)	
<i>Mycoplasma</i>			
Estado civil			
Sem companheiro	82 (11)	661 (89)	< 0,001
Com companheiro	15 (3,3)	439 (96,7)	
Idade			
< 25 anos	40 (13,2)	262 (86,8)	< 0,001
25 – 64 anos	55 (6,3)	824 (93,7)	
≥ 65 anos	2 (12,5)	14 (87,5)	
Escolaridade			
2° grau completo	33 (9,8)	304 (90,2)	< 0,001
2° grau incompleto	12 (11,3)	94 (88,7)	
Ensino Superior	30 (5)	567 (95)	
Não informado	22 (14)	135 (86)	

*Teste Chi-quadrado, p<0,05

A alteração citopatológica LIEBG correlacionou-se positivamente com a infecção por *U. urealyticum*, e com a coinfeção pelos dois microrganismos (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação das alterações citopatológicas cérvico-vaginais com a positividade de mycoplasma e ureaplasma em mulheres atendidas em clínicas ginecológicas privadas em Passo Fundo, RS, nos anos de 2017 e 2018 (n = 1197).

Variáveis	LIEBG/NIC 1 (37) n (%)	Normal(1085) n (%)	p*
Ureaplasma	9 (24,3)	81(7,5)	< 0,001
Mycoplasma	5 (13,5)	88(8,1)	0,20
Ureaplasma/Mycoplasma	2 (5,4)	18(1,7)	< 0,001

*Teste Chi-quadrado, p<0,05.

DISCUSSÃO

U. urealyticum e *M. hominis* são microrganismos encontrados com frequência em mulheres sexualmente ativas, e têm sido relacionados com o desenvolvimento de doença inflamatória pélvica crônica, infertilidade, prematuridade e gestação ectópica³. Diante dessa situação, acredita-se que seja pertinente discutir a frequência dessas bactérias e verificar se há uma relação com idade, alterações citopatológicas, estado civil e escolaridade das pacientes. No presente estudo, a frequência para *U. urealyticum* isoladamente foi próxima a 8% e para

M. hominis também em torno de 8%. Em contrapartida, a coinfeção pelas duas bactérias foi de apenas 1,8 %.

Em relação à faixa etária das pacientes da amostra que realizaram o exame citopatológico e a pesquisa por PCR para *U. urealyticum* e *M. hominis*, observamos idade média de $32,9 \pm 10,1$ anos, esse valor se aproxima da média etária das pacientes inseridas nos programas de rastreamento citopatológico do câncer de colo de útero no Brasil preconizados pelo Ministério da Saúde⁹. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a escolha dessa faixa etária como população-alvo justifica-se por ser a de maior ocorrência de lesões de alto grau, capazes de serem tratadas de maneira efetiva sem evoluir para câncer. Depois dos 65 anos, se todos os exames preventivos foram feitos regularmente e tiveram resultados normais, é baixo o risco de desenvolver câncer do colo uterino devido à sua lenta evolução⁸.

Com relação à pesquisa por PCR para *U. urealyticum* e *M. hominis* obtivemos maior positividade em pacientes com idade menor a 25 anos, em concordância, em outro estudo realizado foi observada maior frequência entre 20 e 29 anos do total das positivas para os microrganismos estudados¹⁰. Tais dados demonstram que pacientes mais jovens podem apresentar infecções relacionadas à adversidades do sistema reprodutivo ou mesmo consideradas co-fatores para desenvolvimento de lesões celulares. Dessa forma, faz-se necessário o acompanhamento das pacientes mais jovens, mesmo que não incluídas no protocolo de rastreamento de lesões precursoras.

Ao analisarmos o estado civil, um pouco mais de 8% das pacientes positivas para *U. urealyticum* não tinham companheiro e aproximadamente 7,5% tinham companheiro. Comparando-se a outro estudo, foi observado que a presença de *U. urealyticum* esteve significativamente associada a mulheres com múltiplos parceiros sexuais e idade inferior a 25 anos¹¹. Todavia, em nosso estudo devido talvez ao pequeno número de pacientes não foi significativa essa diferença. Por outro lado, ao verificarmos a relação da positividade de *M. hominis* com o estado conjugal, foi encontrado significância com ausência de companheiro. É possível imaginar que as pacientes solteiras tenham positividade maior devido à maior possibilidade para atividade sexual e variação de parceiros, ficando mais expostas a riscos de contaminação. Em concordância, Frias et al¹⁰ encontraram maior positividade desses microrganismos juntos em mulheres solteiras (60%) quando comparado às mulheres casadas (40%).

Sobre a escolaridade, a maior parte da positividade para *U. urealyticum* ocorreu em mulheres com ensino médio completo, e, quanto ao *M. hominis*, houve maior positividade no grupo com ensino médio incompleto. Por se tratar de uma amostra do sistema privado de saúde, subentende-se, provavelmente, que estas pacientes com ensino médio incompleto devam se tratar daquelas mais jovens da nossa amostra. Um estudo realizado sobre o papel dos micoplasmas nas infecções humanas também afirmou que a colonização por *M. hominis* está relacionada com a idade jovem, porém este estudo traz pacientes de baixo estado socioeconômico e atividade sexual com múltiplos parceiros, contribuindo para o desenvolvimento, inclusive de vaginose bacteriana e doença inflamatória pélvica¹². Em nosso estudo, o estado socioeconômico não foi avaliado e, portanto, não podemos correlacionar o baixo grau de escolaridade com o baixo nível socioeconômico, mas é possível se alertar para os riscos do início precoce da atividade sexual independentemente do nível socioeconômico.

Quanto ao exame citopatológico, a maior parte das pacientes apresentou resultado normal (90,6%), enquanto 3,9% apresentaram alterações em células epiteliais, sendo 3,1% destas Lesões intraepiteliais de baixo grau (LIEBG/NIC 1) o que corrobora com os conhecimentos que se tem a respeito da presença de tais microrganismos na microbiota vaginal normal, não trazendo alterações significativas nas células epiteliais da vagina e da cérvice uterina.

Nesse contexto, o Manual Bergey's de classificação das bactérias, preconiza que a presença e a persistência destes microrganismos a nível de cérvice uterina e vagina traz pouca interferência no microambiente local, por isso repercute com escassez de manifestações clínicas do trato genital inferior, sendo a maioria das pacientes portadoras assintomáticas¹³. No entanto, encontramos correlação significativa com a infecção por *U. urealyticum*, e com a coinfeção pelos dois microrganismos nos casos diagnosticados com Lesão intraepitelial de baixo grau (LIEBG/NIC 1). Essa contradição reafirma a necessidade de novos estudos para a determinação do papel de micoplasmas e ureaplasmas nas complicações infecciosas e alterações celulares. Além disso, verifica-se que o exame citopatológico não é um método adequado para detecção dessas bactérias, sendo o objetivo principal desse exame avaliar as alterações em células epiteliais e não detalhes na variabilidade da microbiota.

CONCLUSÃO

No presente trabalho obtivemos uma amostra de 1197 pacientes cuja idade média foi de $32,9 \pm 10,1$ anos, as quais apresentaram a presença de *U. urealyticum* em 7,9% e de *M.*

hominis em 8,1%. Dessa forma, concluímos que a positividade para esses microrganismos se dá em mulheres jovens, além do fato de que a presença e a persistência de *U. urealyticum* e *M. hominis* no trato genital inferior de forma assintomática, não traz grandes repercussões epiteliais, pois tratam-se de bactérias intracelulares gerando pouca reação inflamatória local, com isso há uma preocupação ainda maior, pois a persistência dos mesmos no trato genital inferior poderá propiciar sua ascensão, trazendo as complicações a longo prazo que serão a doença inflamatória pélvica, a infertilidade, aborto espontâneo e gravidez ectópica.

REFERÊNCIAS

1. TACHEDJIAN, G; O' HANLON, D; RAVEL, J. The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome Journal*. v. 6, n. 1, p. 29, 2018.
2. LONGO, D.L. et al. *Harrison Medicina Interna*, v.2. 19ª. Edição. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 1165.
3. CAPOCCIA, R. et al. Mycoplasmas and adverse pregnancy outcomes. *Current Opinion Infection Diseases*. v. 26, n. 3, p. 231-240, 2013.
4. RODRIGUEZ, R. et al. Infección genital y esterilidad. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. v. 19, p. 261-6, 2001.
5. MURRAY. PR; ROSENTHAL. KS; PFALLER MA. *Microbiologia Médica*. 7ª.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p.364-367.
6. SIMÕES, J. A; GIRALDO, P.C. O corrimento vaginal durante a gravidez. *J. Bras. Doenças Sex. Transm*. v. 10, n.5, p. 20-30, 1998.
7. XIAO, L. et al. Detection and characterization of human ureaplasma species and serovars by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. v. 48, p. 2.715-2.723, 2010.
8. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa_nacional_controle_cancer_colo_uterio/deteccao_precoce>. Acesso em: 09 de outubro de 2019.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2006; 52(3): 213-23.
10. FRIAS, M. et al. Frequência de *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* na endocérvice de mulheres no menacme. *DST – J bras Doenças Sex Transm.*, v. 13, n. 2, p.5-22, 2001.

11. TIBALDI, C. et al. Maternal risk factors for abnormal vaginal flora during pregnancy. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. v. 133, p. 89–93, 2016.

12. DOMINGUES, D. et al. Micoplasmas: Que Papel nas infecções humanas? *Acta Med Port* 2005; 18: 377-384.

13. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9ª. Edição. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 706-707.

Artigo Científico escrito de acordo com as normas para submissão à revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia – RBGO, ISSN: 0100-7203

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O principal objetivo deste estudo foi identificar a prevalência de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres que realizaram o exame citopatológico em meio líquido cuja amostra foi submetida ao exame de PCR. Após análise dos dados, foi possível identificar a positividade desses microrganismos em 213 pacientes de um total de 1197 avaliadas na pesquisa.

Com o desenvolvimento da citologia ginecológica em meio líquido foi possível detectar a presença de *M. hominis* e *U. urealyticum* no trato genital feminino. A importância em identificar esses microrganismos deve-se a possibilidade deles estarem relacionados com infecções graves tanto nas mães quanto nos recém-nascidos.

De acordo com as análises feitas nesse estudo, concluímos que a positividade para esses microrganismos se dá em mulheres jovens, a grande maioria sem repercussão inflamatória ou alterações citológicas epiteliais, fato esse que traz grande preocupação em relação a presença dessas bactérias no trato genital inferior e suas possíveis complicações (tais como gravidez ectópica, obstrução da tuba uterina, infertilidade, frequentes abortos).

Dessa forma, destaca-se a importância do conhecimento epidemiológico das infecções causadas por ureaplasma e micoplasma, uma vez que podem ser assintomáticas, mas podem interferir em desfechos ginecológicos e obstétricos.



5. ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Detecção de *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* por Reação em Cadeia de Polimerase em exame citopatológico / meio líquido

Pesquisador: Daniela Augustin Silveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 07997219.7.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.237.411

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma reapresentação de proposta de pesquisa, mantida em pendência para próxima reunião. Ver parecer consubstanciado do CEP N° 3.219.607

Objetivo da Pesquisa:

Identificar a prevalência de infecção por *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* em mulheres que realizaram o exame citopatológico em meio líquido cuja amostra foi submetida ao exame de PCR.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

TRANSCRIÇÃO RISCOS: Como a equipe terá acesso aos dados em prontuário eletrônico, existe o risco de o paciente ter seus dados de identificação revelados. Para que este risco seja

minimizado, o nome será substituído pelo número na ficha de dados. No caso de o risco se concretizar, o estudo será interrompido. Comentário: Adequado

TRANSCRIÇÃO BENEFÍCIOS: Não haverá benefícios diretos às participantes do estudo, pois as mesmas foram informadas dos resultados e já foram submetidos ao devido tratamento. Porém, o estudo beneficiará indiretamente outras mulheres, pois permitirá o melhor entendimento da distribuição dos microrganismos estudados na região, e assim, direcionará os profissionais da saúde ao permitir maior conhecimento dessas infecções, além de possibilitar o planejamento de novas ações que visem melhor manejo dos pacientes, através da divulgação dos resultados obtidos na pesquisa em eventos e/ou publicações científicas mantendo o sigilo dos dados pessoais.

Comentário: Adequado

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As alterações solicitadas pelo CEP foram realizadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos obrigatórios foram apresentados adequadamente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem impedimentos éticos para o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento “Deveres do Pesquisador”.

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer substanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão

ética do seu projeto.

3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicização dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a “central de suporte” da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMAÇÕES BASICAS DO PROJETO 1290266.pdf	29/03/2019 17:59:09		Aceito
Outros	tcud.pdf	29/03/2019 17:57:54	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	carta pendencias.pdf	29/03/2019 10:22:24	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	termo de ciencia.pdf	29/03/2019 10:21:43	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	31/01/2019 21:19:07	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Orçamento	recursos.pdf	31/01/2019 21:17:10	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	31/01/2019 21:11:58	Daniela Augustin Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	31/01/2019 21:09:16	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Folha de Rosto	plataforma.pdf	31/01/2019 20:28:13	Daniela Augustin Silveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 01 de
Abril de 2019.

**Assinado por:
Valéria Silvana
Faganello Madureira
(Coordenador(a))**

ANEXO 2 – INSTRUÇÕES REDATORIAIS: REVISTA BRASILEIRA DE
GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

AVALIAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos à revista são recebidos pelo Escritório Editorial, que realiza a conferência das documentações obrigatórias, bem como analisa se as normas editoriais contidas nas Instruções aos Autores foram cumpridas. Se o processo estiver em conformidade, o manuscrito será enviado ao Editor- Chefe que fará uma avaliação de mérito do manuscrito submetido. Se o Editor-Chefe concluir que o trabalho está em condições científicas e técnicas favoráveis, o manuscrito será encaminhado aos Editores Associados, que, por sua vez, designarão pareceristas (processo *double mind*) para avaliar o trabalho. Os pareceres dos revisores e as instruções do editor serão enviados para os autores para que eles tomem conhecimento das alterações a serem introduzidas. Os autores devem reenviar o texto com as modificações sugeridas no prazo solicitado. Ao resubmeter o manuscrito, as correções solicitadas devem estar em destaque no texto (grifadas em amarelo). Em casos de não concordância com as sugestões, inclua as observações nos balões comentários. Seja assertivo e pontual com a inquirição, inclusive sustentando a hipótese com referências.

Página de Título: título do manuscrito, no idioma inglês, com no máximo 18 palavras; Nome completo, sem abreviações, dos autores (no máximo seis); Autor correspondente (Nome completo, endereço profissional de correspondência e e-mail para contato); Afiliação Institucional de cada autor. Exemplo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Conflitos de interesse: os autores devem informar quaisquer potenciais conflitos de interesse seja ele político, econômico, de recursos para execução da pesquisa ou de propriedade intelectual;

Agradecimentos: os agradecimentos ficam restritos às pessoas e instituições que contribuíram de maneira relevante, para o desenvolvimento da pesquisa. Qualquer apoio financeiro seja ele oriundo de órgãos de fomento ou empresas privadas deve ser mencionado

na seção Agradecimentos. A RBGO, para os autores Brasileiros, solicita que os financiamentos das agências CNPq, Capes, FAPESP entre outras, sejam obrigatoriamente mencionadas com o número do processo da pesquisa ou de bolsas concedidas.

Contribuições: conforme os critérios de autoria científica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), o crédito de autoria deve ser fundamentado em três condições que devem ser atendidas integralmente: 1. Contribuições substanciais para concepção e delineamento, coleta de dados ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual e 3. Aprovação final da versão a ser publicada.

DOCUMENTOS OBRIGATÓRIOS PARA SUBMISSÃO

Ao submeter um manuscrito à RBGO anexe os documentos listados abaixo na plataforma de submissão ScholarOne. Cabe ressaltar que o não encaminhamento resultará no cancelamento do processo submetido. Documentação obrigatória para a submissão online: Autorização de transferência dos direitos autorais assinada por todos os autores (escaneada e anexada como documento suplementar) **Modelo**; Em conformidade com o capítulo XII.2 da Res. CNS 466/2012, no Brasil, pesquisas envolvendo seres humanos necessitam informar o número do registro referente ao Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) ou o número do parecer de aprovação da pesquisa (CEP/CONEP) no Comitê de Ética. Manuscritos internacionais devem apresentar a documentação ética local para seguirem no processo de submissão; Carta de Apresentação (Cover Letter): deverá ser redigida com o propósito de justificar a publicação. Deve-se identificar os autores, a titulação da equipe que pretende publicar, instituição de origem dos autores e a intenção de publicação; Página de Título; Manuscrito.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Rev Bras Ginecol Obstet., ISSN 1806-9339), publicação mensal de divulgação científica da Federação das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO), é dirigida a obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar resultados de pesquisa sobre temas relevantes no campo da Ginecologia, Obstetrícia e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais. A revista recebe submissões apenas no idioma inglês.

O material enviado para análise não pode ter sido submetido simultaneamente à publicação em outras revistas nem publicado anteriormente. Na seleção dos manuscritos para publicação, são avaliadas originalidade, relevância do tema e qualidade da metodologia utilizada, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista. O material publicado passa a ser propriedade intelectual da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia e da Febrasgo.

Título: Ao escrever um artigo científico, o pesquisador deve se atentar na elaboração do título do manuscrito. O título é o cartão de visitas de qualquer publicação. Deve ser elaborado com muito cuidado e de preferência escrito apenas após a finalização do artigo. Um bom título é aquele que descreve adequadamente o conteúdo do manuscrito. Geralmente, ele não é uma frase, pois não contém o sujeito, além de verbos e objetos arranjados. Os títulos raramente devem conter abreviações, fórmulas químicas, adjetivos acessivos, nome de cidades entre outros. O título dos manuscritos submetidos à RBGO deve conter no máximo 18 palavras.

Resumo: O resumo deve fornecer o contexto ou a base para o estudo e deve estabelecer os objetivos do estudo, os procedimentos básicos, os principais resultados e as principais conclusões. Deve enfatizar aspectos novos e importantes do estudo ou das observações. Pelo fato de os resumos serem a única parte substantiva do artigo indexada em muitas bases de dados eletrônicas, os autores devem cuidar para que os resumos reflitam o conteúdo do artigo de modo preciso e destacar. No Resumo não utilize abreviações, símbolos e referências. No caso de artigos originais oriundos de ensaios clínicos, os autores devem informar o número de registro ao término da redação. Os resumos dos artigos originais submetidos à RBGO devem ser, obrigatoriamente, estruturados em quatro seções e conter no máximo 250 palavras: **Objetivo:** O que foi feito; a questão formulada pelo investigador. **Métodos:** Como foi feito; o método, incluindo o material usado para alcançar o objetivo. **Resultados:** O que foi encontrado, o achado principal e, se necessário, os achados secundários. **Conclusão:** O que foi concluído; a resposta para a questão formulada.

Palavras-chave: As palavras-chave de um trabalho científico indicam o conteúdo temático do texto que representam. Dentre os objetivos dos termos mencionados considera-se como principais a identificação do conteúdo temático, a indexação do trabalho nas bases de dados e a rápida localização e recuperação do conteúdo. Os sistemas de palavras-chave utilizados pela RBGO são o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde – Indexador Lilacs) e o

MeSH (Medical Subject Headings – Indexador MEDLINE-PubMed). Por gentileza, escolha cinco descritores que representem o seu trabalho nestas plataformas.

Corpo do manuscrito (Os manuscritos submetidos à RBGO devem possuir no máximo 4000 palavras, sendo que as tabelas, quadros e figuras da seção Resultados não são contabilizados, bem como as Referências).

Introdução: a introdução de um artigo científico tem por finalidade informar o que foi pesquisado e o porquê da investigação. É a parte do artigo que prepara o leitor para entender a investigação e a justificativa de sua realização. O conteúdo a ser informado nesta seção deve fornecer contexto ou base para o estudo (isto é, a natureza do problema e a sua importância); declarar o propósito específico, o objetivo de pesquisa ou a hipótese testada no estudo ou observação. O objetivo de pesquisa normalmente tem um foco mais preciso quando é formulado como uma pergunta. Tanto os objetivos principais quanto os secundários devem estar claros e quaisquer análises em um subgrupo pré-especificados devem ser descritas; dar somente referências estritamente pertinentes e não incluir dados ou conclusões do trabalho que está sendo relatado.

Métodos: segundo o dicionário Houaiss, “é um processo organizado, lógico e sistemático de pesquisa”. Método compreende o material e os procedimentos adotados na pesquisa de modo a poder responder à questão central de investigação. Estructure a seção Métodos da RBGO iniciando pelo tipo de delineamento do estudo; o cenário da pesquisa (local e a época em que se desenrolou); a amostra de participantes; a coleta de dados; a intervenção a ser avaliada (se houver) e também a intervenção alternativa; os métodos estatísticos empregados e os aspectos éticos de investigação. Ao pensar na redação do delineamento do estudo reflita se o delineamento é apropriado para alcançar o objetivo da investigação, se a análise dos dados reflete o delineamento e se foi alcançado o que se esperava com o uso daquele delineamento para pesquisar o tema.

Resultados: O propósito da seção Resultados é mostrar o que foi encontrado na pesquisa. São os dados originais obtidos e sintetizados pelo autor, com o intuito de fornecer resposta à questão que motivou a investigação. Para a redação da seção, apresente os resultados em sequência lógica no texto, nas tabelas e nas ilustrações, mencionando primeiro os achados mais importantes. Não repita no texto todas as informações das tabelas ou ilustrações; enfatize ou resuma apenas observações importantes. Materiais adicionais ou suplementares e detalhes técnicos podem ser colocados em um apêndice, no qual estarão

acessíveis, mas não interromperão o fluxo do texto. Como alternativa, essas informações podem ser publicadas apenas na versão eletrônica da Revista. Quando os dados são resumidos na seção resultado, dar os resultados numéricos não apenas em valores derivados (por exemplo, percentuais), mas também em valores absolutos, a partir dos quais os derivados foram calculados, e especificar os métodos estatísticos usados para analisá-los. Use apenas as tabelas e figuras necessárias para explicar o argumento do trabalho e para avaliar o seu embasamento. Quando for cientificamente apropriado, as análises dos dados com variáveis tais como idade e sexo devem ser incluídas. Não ultrapasse o limite de no máximo cinco tabelas, cinco quadros ou cinco figuras. As tabelas, quadros e/ou figuras devem ser incluídas no corpo do manuscrito.

Discussão: enfatize os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões deles derivadas. Não repita detalhadamente dados ou outras informações apresentados nas seções de introdução ou de resultados. Para estudos experimentais, é útil iniciar a discussão resumindo brevemente os principais achados, comparar e contrastar os resultados com outros estudos relevantes, declarar as limitações do estudo e explorar as implicações dos achados para pesquisas futuras e para a prática clínica. Evite alegar precedência e aludir a trabalhos que não estejam completos. Não discuta dados que não são diretamente relacionados aos resultados da pesquisa apresentada. Proponha novas hipóteses quando justificável, mas qualificá-las claramente como tal. No último parágrafo da seção Discussão informe qual a informação do seu trabalho que contribui relativamente para o avanço-novo conhecimento.

Conclusão: A seção Conclusão tem por função relacionar as conclusões com os objetivos do estudo, mas o autor deve evitar afirmações sem embasamento e conclusões que não tenham sustentação adequada pelos dados. Em especial, os autores devem evitar fazer afirmações sobre benefícios econômicos e custos, a menos que seu original incluía análises econômicas e dados apropriados.

Referências: Uma pesquisa é fundamentada nos resultados de outras que a antecederam. Uma vez publicada, passa a ser apoio para trabalhos futuros sobre o tema. No relato que faz de sua pesquisa, o autor assinala os trabalhos consultados que julga pertinente informar aos leitores, daí a importância de escolher boas Referências. As referências adequadamente escolhidas dão credibilidade ao relato. Elas são fonte de convencimento do leitor da validade dos fatos e argumentos apresentados.

Atenção! Para os manuscritos submetidos à RBGO, os autores devem numerar as referências por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no texto. Evite o número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos, teses ou publicações de circulação restrita (não indexados). Busque citar as referências primárias e convencionais (artigos em periódicos científicos e os livros-textos). Não empregue referências do tipo "observações não publicadas" e "comunicação pessoal". Publicações dos autores (autocitação) devem ser empregadas apenas se houver necessidade clara e forem relacionadas ao tema. Nesse caso, incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais publicados em periódicos regulares (não citar capítulos ou revisões). O número de referências deve ser de 35, exceto para artigos de revisão. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências.

*As instruções aos Autores deste periódico foram elaboradas baseadas na obra literária *Artigos Científicos: Como redigir, publicar e avaliar* de Maurício Gomes Pereira, Editora Guanabara Koogan, 2014.

ENVIO DE MANUSCRITOS

Os artigos deverão, obrigatoriamente, ser submetidos por via eletrônica, de acordo com as instruções publicadas no site <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbgo-scielo>
Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia
Endereço: Av. Brigadeiro Luiz Antonio, 3421, 01401-001, sala 903, Jardim Paulista, São Paulo, SP, Brasil. Tel.: + 55 11 5573.4919
Email: editorial.office@febrasgo.org.br
Home Page: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/issue/10.1055/s-006-331750> e não contabilizam o limite solicitado de 4000 palavras.