



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TRANSLACIONAL

MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA

**DESCRIÇÃO DO MICROBIOMA DE NEOVAGINA CONSTRUÍDA COM PELE DE
TILÁPIA**

FORTALEZA/CE

2025

MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA

DESCRIÇÃO DO MICROBIOMA DE NEOVAGINA CONSTRUÍDA COM PELE DE
TILÁPIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Medicina Translacional.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Robson
Pinheiro Sobreira Bezerra

Coorientadores: Prof. Dr. Lauro Vieira
Perdigão Neto

Profa. Dra. Silvia Figueiredo Costa

FORTALEZA/CE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O48d Oliveira, Muse Santiago de.
 Descrição do microbioma de neovagina construída com pele de tilápia / Muse Santiago de Oliveira. – 2025.
 134 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional, Fortaleza, 2025.
 Orientação: Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra.
 Coorientação: Prof. Dr. Lauro Vieira Perdigão Neto.
1. Anormalidades Congênitas. 2. Vagina. 3. Tilápia. 4. Microbiota. 5. RNA Ribossômico 16S. I. Título.

CDD 610

MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA

DESCRIÇÃO DO MICROBIOMA DE NEOVAGINA CONSTRUÍDA COM PELE DE
TILÁPIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Medicina Translacional.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Carlos Roberto Koscky Paier
Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/UFC)

Prof. Dr. Allysson Allan de Farias
Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/UFC)

Dra. Evelyne Santana Girão
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto
Centro Universitário Christus (Unichristus)

À minha mãe, que mesmo quando a voz
lhe falta, o sorriso me guia.

AGRADECIMENTOS

Ao meu prezado orientador, Professor Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra, pelo privilégio da oportunidade de executar uma das brilhantes ideias de sua mente genuinamente criativa e inovadora.

À Professora Dra. Silvia Figueiredo Costa (coorientadora), pela calorosa acolhida, pela dedicação à pesquisa científica deste país e pela sobriedade em lidar com sua própria grandeza profissional e pessoal, à guisa de quem detém o legítimo saber.

Ao Dr. Edmar Maciel Lima Júnior e ao Professor Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho, pelo interesse e empenho inesgotáveis em promover o desenvolvimento da pesquisa no Ceará.

À Dra. Evelyne Santana Girão e à Professora Dra. Melissa Soares de Medeiros, pelo tempo disponibilizado e pelas valiosas sugestões na banca de qualificação.

Ao Professor Dr. Francisco Edson de Lucena Feitosa, por educar pelo exemplo, por viabilizar esta pesquisa e pela defesa obstinada de um ensino de primazia e de uma assistência de excelência na Maternidade-Escola Assis Chateaubriand.

Ao Professor Dr. Carlos Augusto Alencar Júnior, pelo modelo de profissional e gestor. Pela retidão, senso de justiça e empatia.

À Professora Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto, pelo incentivo constante. Por sua louvável capacidade profissional. Pelo exemplo de determinação e compromisso. Pela sua legítima força interior. Por nossa franca amizade.

À Professora Dra. Zenilda Vieira Bruno, por toda sua trajetória. Pelo legado no Ambulatório de Adolescentes. Por seu pioneirismo em tantas áreas. Por abraçar com paixão as suas causas. Por sempre acreditar em mim. Para quem não tenho como expressar com palavras minha profunda gratidão.

À Raquel Meireles, Danila Paula, Aninha, Luciane e a todos os profissionais do ambulatório de DDS da MEAC.

À Joyce Fonseca, por toda colaboração e prestatividade; ao Lucas Franco e a todos os demais alunos e colaboradores do LIM-49 do HCFUSP.

À Sofphya Martins, pela parceria, e aos demais colegas do Programa de Pós-

graduação em Medicina Translacional

Aos alunos da iniciação científica da FAMED, Samuel, Mariana, Marinna, Luana.
À Juliana Camurça, Irlândia Chaves e Ludilene Ponte pelas contribuições.

Ao Lauro (Professor Dr. Lauro Vieira Perdigão Neto, coorientador). Pelos tempos de faculdade. Pelos estudos que varavam as madrugadas. Por nossas risadas e trapalhadas. Pela “história da Casa Pio”. Por sua genialidade natural e descomprometida. Por nossas diferenças e semelhanças. Por fazer acontecer sempre. Por sua falta de tempo dos últimos tempos. Sem você nada disso seria possível.

E, por fim, agradeço à minha família, a quem devo toda minha história de vida.

Ao meu pai, Galeno, pelas orientações de uma vida inteira e por me ensinar a coragem de não desistir dos sonhos.

À minha mãe, Fátima, pela leveza da alma e resiliência. Por seu amor incondicional.

Aos meus irmãos, Sara, Iole e Crasso e tia querida, Zezé, pelo apoio e torcida.
Às minhas estimadas cunhadas e aos amados sobrinhos.

Ao Júnior, pelo companheirismo e dedicação incondicionais. Pelo incentivo constante em me manter firme. Por sempre segurar minha mão.

À vovó Rosa, pelas orações... Pela saudade que ficou em meu caminho...Pelo eterno sonho de fazer “doutora” sua neta primogênita.

“O essencial é invisível aos olhos.”

(Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

Descrição do microbioma de neovagina construída com pele de tilápia. Muse Santiago de Oliveira. Orientador: Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional. Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos, Faculdade de Medicina, UFC. Fortaleza, 2025.

Este estudo descreve o microbioma de neovaginas construídas com pele liofilizada do peixe tilápia do Nilo em pacientes com agenesia vaginal e compara seus achados com o microbioma de neovaginas construídas com enxerto de pele autóloga (autoenxerto), com o microbioma fecal das próprias pacientes e com o microbioma vaginal típico de grupo controle. **Métodos:** estudo de corte transversal com 23 pacientes atendidas na Maternidade Escola Assis Chateaubriand da Universidade Federal do Ceará (MEAC/UFC), sendo 18 submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia e 5 com enxerto de pele autóloga (autoenxerto). Ao todo, analisaram-se 41 amostras vaginais e fecais dos dois grupos, coletadas entre julho de 2022 e maio de 2023, armazenadas a -80 °C no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/UFC) e processadas por sequenciamento do gene 16S rRNA no Laboratório de Investigação Médica 49 (LIM 49) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFUSP). **Resultados:** os dados revelaram a presença dos filos Firmicutes, Actinobacteriota, Bacteroidota, Fusobacteriota e Proteobacteria. Em nível de gênero, na maioria das amostras neovaginais (tilápia e autóloga), as análises identificaram *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Streptococcus*. Nas neovaginas com pele de tilápia, observou-se em menor quantidade os gêneros *Fingoldia*, *Faecalibacterium* e *Bacteroides*. As amostras fecais coletadas de ambos os grupos apresentaram maior abundância de *Prevotella*, *Faecalibacterium* e *Bacteroides*. A predominância de *Lactobacillus iners* nas amostras de neovaginas bem como espécies anaeróbias, sugeriu semelhanças com os tipos de comunidades bacterianas (CST) III e IV, segundo a classificação de Ravel *et al.* (2011) para microbiota vaginal. **Conclusões:** os resultados indicam que a pele de tilápia pode favorecer a colonização por comunidades bacterianas semelhantes às da vagina humana, o que reforça seu potencial como biomaterial alternativo a outros enxertos.

Este é o primeiro estudo a utilizar sequenciamento de nova geração para caracterizar o microbioma de neovaginas revestidas com pele de tilápia, contribuindo de forma inédita para o entendimento das implicações microbiológicas desse procedimento cirúrgico.

Palavras-chave: Anormalidades Congênitas. Vagina. Tilápia. Microbiota. RNA Ribossômico 16S

.

ABSTRACT

This study describes the microbiome of neovaginas constructed with lyophilized Nile tilapia fish skin in patients with vaginal agenesis and compares its findings with the microbiome of neovaginas made with autologous skin grafts, the fecal microbiome of the same patients, and the typical vaginal microbiome of a control group. Methods: A cross-sectional study was conducted with 23 patients treated at the *Maternidade Escola Assis Chateaubriand* (Assis Chateaubriand Teaching Maternity Hospital) of the *Universidade Federal do Ceará* (Federal University of Ceará – MEAC/UFC), including 18 who underwent neovaginoplasty with tilapia skin and 5 with autologous skin grafts. A total of 41 vaginal and fecal samples were analyzed, collected between July 2022 and May 2023, stored at -80 °C at the *Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos* (Center for Research and Drug Development – NPDM/UFC), and processed by 16S rRNA gene sequencing at the Laboratório de Investigação Médica 49 (Medical Investigation Laboratory 49 – LIM 49) of the *Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo* (Clinical Hospital of the University of São Paulo – HCFUSP). Results: The data revealed the presence of the phyla Firmicutes, Actinobacteriota, Bacteroidota, Fusobacteriota, and Proteobacteria. At the genus level, most neovaginal samples (tilapia and autologous) presented *Lactobacillus*, *Prevotella*, and *Streptococcus*. In neovaginas with tilapia skin, *Finnegoldia*, *Faecalibacterium*, and *Bacteroides* were found in lower abundance. Fecal samples showed higher abundance of *Prevotella*, *Faecalibacterium*, and *Bacteroides*. The predominance of *Lactobacillus* iners in the neovaginal samples, along with anaerobic species, suggested similarities with bacterial community types (CSTs) III and IV, according to the classification proposed by Ravel *et al.* (2011) for the vaginal microbiota. Conclusions: The results indicate that tilapia skin may support colonization by bacterial communities similar to those found in the human vagina, reinforcing its potential as an alternative biomaterial to other grafts. This is the first study to use next-generation sequencing to characterize the microbiome of neovaginas lined with tilapia skin, providing novel insights into the microbiological implications of this surgical technique.

Keywords: Congenital Abnormalities. Vagina. Tilapia. Microbiota. RNA, Ribosomal, 16S.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação de grupos comunitários bacterianos vaginais (CSTs) por grupo étnico	27
Figura 2 -	Genitália externa de paciente com SMRKH	33
Figura 3 -	Imagem comparativa da pelve feminina com as alterações anatômicas na SMRKH	33
Figura 4 -	Dilatadores vaginais de silicone utilizados no tratamento da Síndrome de Rokitansky	37
Figura 5 -	Resumo ilustrativo da técnica de McIndoe	39
Figura 6 -	Etapas da cirurgia de neovaginoplastia com pele autóloga na MEAC	42
Figura 7 -	Molde flexível feito de esponja e preservativo utilizado após a alta da paciente	43
Figura 8 -	Resultado de pós-operatório de neovaginoplastia com pele autóloga	44
Figura 9 -	Cicatrização de região inguinal, após retirada de pele para enxerto de neovaginoplastia	44
Figura 10 -	Etapas do processamento da pele de tilápia	48
Figura 11 -	Preparo da pele de tilápia durante a neovaginoplastia	50
Figura 12 -	Molde vaginal acrílico antes e depois da inserção no canal recém-criado	50
Figura 13 -	Exame especular após 60 dias da cirurgia de neovaginoplastia	51
Figura 14 -	Células escamosas visualizadas em exames citológicos de neovagina com pele de tilápia do Nilo	55

Figura 15 - Bacterioscopia (coloração de Gram) de conteúdo vaginal de neovagina construída com pele de tilápia do Nilo	56
Figura 16 - Representação da região V4 (hipervariável) presente dentro do gene 16S RNA ribossomal	62
Figura 17 - Representação da seleção das amostras processadas e sequenciadas	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Classificação das diferenças/distúrbios do desenvolvimento sexual em três categorias de acordo com o cariótipo	31
Quadro 2-	Correlação entre identificação das pacientes e amostras enviadas para processamento e análise	76

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de filo das amostras de neovagina com pele de tilápia, pele autóloga e material fecal	78
Gráfico 2 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de gênero das amostras de neovagina com pele de tilápia, pele autóloga e material fecal....	79
Gráfico 3 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de gênero das amostras de neovagina com pele de tilápia e neovagina com enxerto de pele autóloga	80
Gráfico 4 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de filo das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia, neovagina com enxerto de pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.	81
Gráfico 5 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de gênero das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia, neovagina com enxerto de pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.	82
Gráfico 6 -	<i>Bar plot</i> da relativa abundância em nível de gênero das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia e pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.....	83
Gráfico 7 -	Abundância relativa de gêneros bacterianos clinicamente relevantes com diferenças significativas entre os tipos de amostra	84
Gráfico 8 -	Abundância relativa de espécies do gênero <i>Lactobacillus</i> com diferenças significativas entre os tipos de amostra	86
Gráfico 9 -	Comparação da diversidade alfa entre os diferentes tipos de amostra	88
Gráfico 10 -	PCoA das Comunidades Microbianas das amostras de neovagina, autóloga e fecal, usando a Distância de Bray-Curtis ...	90

Gráfico 11 - PCoA das Comunidades Microbianas das amostras de neovaginas (tilápia e autóloga), fecal e amostras vaginais controle, utilizando a Distância de Bray-Curtis	91
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos das pacientes com neovagina construída com enxerto de pele autóloga	70
Tabela 2 - Dados clínicos das pacientes com neovagina construída com enxerto de pele autóloga	70
Tabela 3 - Dados demográficos das pacientes com neovagina construída com de pele de tilápia liofilizada	72
Tabela 4 - Dados clínicos das pacientes com neovagina construída com de pele de tilápia liofilizada	74
Tabela 5 - Relativa abundância dos principais gêneros identificados nas amostras neovaginais (tilápia e autóloga) e espécies de <i>Lactobacillus</i>	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASVs	Amplicon Sequence Variants
CAIS	Complete Androgen Insensitivity Syndrome
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CH-UFC	Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará
CSTs	Community State Types
DDS	Diferenças do Desenvolvimento Sexual
DHT	Dihidrotestosterona
DIUs	Dispositivos Intra-Uterinos
DSD	Disorder of Sex Development
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HMP	Human Microbiome Project
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
ISTs	Infecções sexualmente transmissíveis
LARC	Long-acting reversible contraceptives
MAG	Metodologia de agrupamento de genomas
MEAC	Maternidade-Escola Assis Chateaubriand
MRKH	Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser
MS	Ministério da Saúde
MURCS	Müllerian Renal Cervical Somite
NGS	New Generation Sequencing

NIH	National Institutes of Health
NMDS	Escalonamento Multidimensional Não-Métrico
NPDM-UFC	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará
OTUs	Unidades Taxonômicas Operacionais
PAIS	Partial Androgen Insensitivity Syndrome
PCoA	Análise de Coordenadas Principais
PCR-DGGE	Lactobacillus por eletroforese em gel de gradiente desnaturante
PIV	Vaginoplastia de inversão peniana
PMH	Projeto do Microbioma Humano
QIIME 2	Quantitative Insights Into Microbial Ecology
SIA	Síndrome da Insensibilidade aos Andrógenos
SMRKH	Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser
SUS	Sistema Único de Saúde
T	Testosterona
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGNB	Transgêneros e não binários de gênero
UFC	Universidade Federal do Ceará
USP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
VA	Vaginite aeróbica
VB	Vaginose bacteriana
VIRGO	Catálogo de genes não redundantes vaginais

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

% Porcentagem

< Menor que

™ Slogan

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	O Microbioma Humano	23
1.2	A Microbiota Vaginal	24
1.3	A Microbiota Intestinal	28
1.4	Diferenças do Desenvolvimento Sexual	30
1.5	A Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (SMRKH) ou Agenesia Mülleriana (Agenesia Vaginal)	32
1.6	Tratamento da agenesia vaginal e a neovaginoplastia	36
1.7	O Ambulatório de Adolescentes da Maternidade- Escola Assis Chateaubriand (MEAC) e a Neovaginoplastia com Pele Autóloga no Ceará – Breve Histórico.....	40
1.8	Pele de Tilápia do Nilo- A experiência de um novo biomaterial	44
1.9	A Neovaginoplastia com Pele de Tilápia do Nilo- Um Experimento Inovador	49
1.10	A Microbiota Neovaginal.....	52
1.11	Justificativa	56
2	OBJETIVOS	57
2.1	Objetivo geral	57
2.2	Objetivos específicos	57
3.	METODOLOGIA	58
3.1	Desenho, população-alvo e locais do estudo	58
3.1.1	<i>Desenho do estudo</i>	58
3.1.2	<i>População-alvo e período do estudo</i>	58
3.1.3	<i>Locais do estudo</i>	58
3.2	Dados Sociodemográficos e Clínicos	59

3.3	Coleta do Material	59
3.4	Métodos laboratoriais	60
3.5	Seleção da população controle	66
3.6	Aspectos Éticos	66
4.	RESULTADOS	68
4.1	Neovaginoplastia com pele autóloga	68
4.2	Neovaginoplastia com pele de Tilápia liofilizada	71
4.3	Seleção das Amostras	75
4.4	Comunidades Microbianas	76
4.4.1	Distribuição em Nível de Filo	77
4.4.1.1	<i>Amostras Neovaginais</i>	<i>77</i>
4.4.2.2	<i>Amostras Fecais</i>	<i>77</i>
4.4.2	<i>Distribuição em Nível de Gênero</i>	<i>78</i>
4.4.2.1	<i>Amostras Neovaginais</i>	<i>78</i>
4.4.2.2	<i>Amostras Fecais</i>	<i>78</i>
4.4.2.3	<i>Comparação entre Pele de Tilápia e Pele Autóloga</i>	<i>79</i>
4.4.3	<i>Comparação com o Grupo Controle</i>	<i>80</i>
4.4.4	<i>Gêneros com Diferenças Estatisticamente Significativas</i>	<i>83</i>
4.4.5	<i>Identificação das espécies de Lactobacilli nas amostras</i>	<i>86</i>
4.5	Achados de alfa diversidade	87
4.6	Achados de beta diversidade	89
5.	DISCUSSÃO	92
6.	CONCLUSÃO	103
	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICE A - Formulário com dados sociodemográficos e clínicos	
	<i>(Google Docs)</i>	<i>119</i>

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	127
APÊNDICE C – Instrumento de coleta de dados	130
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP	131

1. INTRODUÇÃO

1.1 O Microbioma Humano

Historicamente, a microbiologia concentrou-se na identificação de microrganismos patogênicos e na compreensão de suas relações com doenças humanas. Essa abordagem foi impulsionada por descobertas fundamentais, como as de Louis Pasteur, que refutou a teoria da geração espontânea e estabeleceu a teoria germinal das doenças infecciosas, e Robert Koch, que formulou os postulados que associam microrganismos específicos a doenças determinadas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

No entanto, ao longo do século XX, tornou-se evidente que apenas uma pequena fração dos microrganismos está associada à patogenicidade. A maioria desempenha papéis essenciais no funcionamento dos ecossistemas e na manutenção da saúde dos macrorganismos. Estudos sobre a microbiota humana revelaram que microrganismos residentes no corpo humano interagem de maneira benéfica com o hospedeiro, contribuindo para processos como a digestão, a modulação do sistema imunológico e a proteção contra patógenos (CHO; BLASER, 2012; GRICE; SEGRE, 2012).

Este reconhecimento levou a uma mudança paradigmática na microbiologia, ampliando o foco para incluir as interações simbióticas entre microrganismos e seus hospedeiros. A compreensão dessas relações é fundamental para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e para a promoção da saúde humana.

A publicação da sequência do genoma humano em 2001 representou um marco significativo na biologia, prometendo avanços na compreensão das bases genéticas das doenças humanas (VENTER *et al.*, 2001; IHGSC, 2001). Entretanto, logo se reconheceu que o genoma humano, por si só, não fornecia uma explicação completa para os processos de saúde e doença. A ausência de informações sobre os microrganismos que habitam o corpo humano limitava a compreensão integral da fisiologia humana e das interações entre o hospedeiro e seus microrganismos residentes (TURNBAUGH *et al.*, 2007).

A descoberta do DNA, o desenvolvimento de tecnologias de

sequenciamento, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e técnicas de clonagem permitiram a investigação de comunidades microbianas usando abordagens independentes de cultivo, baseadas em DNA e RNA (LLOYD-PRICE *et al.*, 2017).

Nesse contexto, emergiu o conceito de microbioma humano, referindo-se ao conjunto de microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos e de seu material genético existentes no corpo humano (MOR *et al.*, 2015; PINES, 2015).

O Projeto do Microbioma Humano ou *Human Microbiome Project* (HMP), iniciado em 2007 e lançado pelo *National Institutes of Health* (NIH) nos Estados Unidos, teve como objetivo caracterizar a diversidade microbiana em diferentes sítios do corpo humano, incluindo o trato gastrointestinal, cavidade oral, pele, trato urogenital e fossas nasais (HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012).

Essas descobertas reforçaram a necessidade de integrar o estudo do microbioma às pesquisas genômicas para uma compreensão mais abrangente da biologia humana (PETERSON *et al.*, 2009; GRICE; SEGRE, 2012; PROCTOR *et al.*, 2019).

Em relação ao trato genital feminino, a microbiota vaginal foi caracterizada e áreas anteriormente consideradas estéreis, como o útero e a placenta, também demonstraram possuir microbiomas próprios (FRANASIAK *et al.*, 2017). Estudos indicaram que a microbiota endometrial desempenha um papel fundamental na receptividade endometrial e na implantação embrionária, influenciando diretamente a fertilidade (MORENO *et al.*, 2017). Quanto à placenta, embora a existência de um microbioma placentário ainda seja objeto de debate, algumas pesquisas sugerem a presença de bactérias comensais que podem impactar o desenvolvimento fetal e as respostas imunológicas neonatais (CHEN *et al.*, 2017).

Tais evidências destacaram a importância de compreender as complexas interações entre os microbiomas desses sistemas e sua influência na saúde reprodutiva feminina.

1.2 A Microbiota Vaginal

Em mulheres saudáveis na idade reprodutiva, a mucosa vaginal é

predominantemente colonizada por bactérias do gênero *Lactobacillus*, que desempenham um papel crucial na manutenção da saúde vaginal (YOUNES *et al.*, 2018; VALENT *et al.*, 2018). Essas bactérias contribuem para a homeostase local por meio de diversos mecanismos, incluindo a produção de ácido lático, que mantém o pH vaginal em níveis ácidos, inibindo o crescimento de patógenos; a produção de substâncias antimicrobianas, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e bacteriocinas; a competição por nutrientes e locais de adesão no epitélio vaginal; e a modulação do sistema imunológico local (GREEN *et al.*, 2015; VALENTI *et al.*, 2018).

Inicialmente identificados como *Lactobacillus acidophilus*, tal conhecimento representava uma visão simplificada destes microrganismos diante dos estudos posteriores baseados no sequenciamento do gene 16S rRNA de alto rendimento que observaram uma complexa estruturação do microambiente vaginal (WITKIN *et al.*, 2007).

Nesse contexto, foram identificadas na composição da microbiota vaginal diferentes espécies dominantes de *Lactobacillus*, tais como: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii*, pertencentes ao filo Firmicutes (RAVEL *et al.*, 2011; GREEN *et al.*, 2015; SMITH *et al.*, 2017).

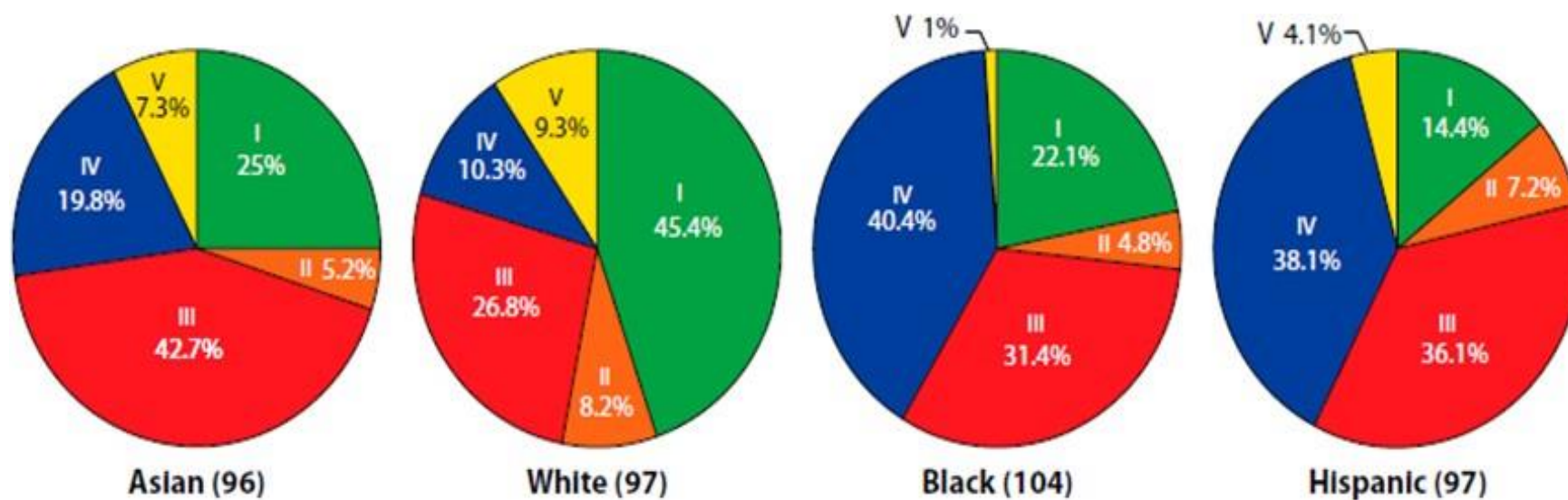
Com base nessas descobertas, Ravel *et al.* (2011) propuseram a classificação das comunidades bacterianas vaginais em cinco tipos principais, denominados *Community State Types* (CSTs):

- **CST-I:** predominância de *Lactobacillus crispatus*;
- **CST-II:** predominância de *Lactobacillus gasseri*;
- **CST-III:** predominância de *Lactobacillus iners*;
- **CST-IV:** não contém um número significativo de *Lactobacillus*, mas uma mistura polimicrobiana de anaeróbios estritos e facultativos, incluindo espécies dos gêneros *Gardnerella*, *Atopobium* e *Mobiluncus* (filo Actinobacteriota), *Prevotella* (filo Bacteriota) e da ordem de *Clostridiales*;
- **CST-V:** predominância de *Lactobacillus jensenii*.

A frequência desses CSTs foi diferente nas diversas origens étnicas, com uma parcela de mulheres saudáveis assintomáticas, particularmente negras e hispânicas,

apresentando CST-IV mais comum (40%), sugerindo a influência de variações genéticas no microbioma vaginal (Figura 1).

Figura 1 - Representação de grupos comunitários bacterianos vaginais (CSTs) por grupo étnico.



Observa-se o número de mulheres de cada grupo étnico entre parênteses.
Fonte: RAVEL *et al.*, 2011.

A composição da microbiota vaginal pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo idade, flutuações hormonais, atividade sexual, uso de antibióticos e práticas de higiene. Durante o ciclo menstrual e a menopausa, alterações hormonais podem levar a mudanças na composição microbiana, impactando na saúde vaginal (FRANASIAK *et al.*, 2015; GARCIA-VELASCO *et al.*, 2017; LEWIS *et al.*, 2017).

Distúrbios na composição das comunidades bacterianas (disbiose vaginal) pode ter consequências clínicas significativas (AMABEBE; ANUMBA, 2018). A vaginose bacteriana (VB) é caracterizada por um aumento de bactérias anaeróbicas mistas, como *Bacteroides*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Mobiluncus* e *Gardnerella*, e uma diminuição de *Lactobacillus*. Embora a VB possa ser assintomática, pode causar corrimento anormal e reduzir a acidez do ambiente vaginal. A vaginite aeróbica (VA) é uma condição semelhante devido ao crescimento excessivo de bactérias aeróbicas, como *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Streptococcus agalactiae* (Grupo B) e *Staphylococcus*, que tendem a causar mais inflamação do que a VB. Tanto a VB quanto a VA estão associadas a um risco aumentado de aquisição de infecções sexualmente transmissíveis (IST) e complicações na gravidez (STOEHR; MOSS; JAHROMI, 2023).

Há um crescente corpo de evidências de que a microbiota vaginal, que é única para cada mulher, desempenha um papel fundamental na determinação de múltiplas facetas da saúde feminina. A compreensão aprofundada da microbiota vaginal e seus impactos na saúde reprodutiva são essenciais para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas eficazes (GARCÍA-VELASCO *et al.*, 2017; YOUNES *et al.*, 2018).

1.3 A Microbiota Intestinal

O microbioma intestinal humano constitui um ecossistema microbiano altamente complexo e dinâmico, essencial para a manutenção da homeostase fisiológica. Esse conjunto de microrganismos, que inclui bactérias, vírus, fungos e arqueias, interage intensamente com o hospedeiro, influenciando processos digestivos, metabólicos, imunológicos e neurológicos. Estudos demonstram que a microbiota intestinal é composta predominantemente pelos filos Firmicutes e Bacteroidota, que juntos representam cerca de 90% das bactérias intestinais. Outros

filos presentes em menor proporção incluem Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia e Fusobacteria (HOLLISTER; GAO; VERSALOVIC, 2014; KOMODROMOU *et al.*, 2024).

A composição da microbiota intestinal é estabelecida desde o nascimento e é influenciada por diversos fatores, como o tipo de parto, a alimentação, o uso de antibióticos e o ambiente. Bebês nascidos por parto vaginal adquirem uma microbiota semelhante à da microbiota vaginal materna, enquanto aqueles nascidos por cesariana apresentam uma microbiota mais semelhante à da pele materna. Essa colonização inicial tem implicações significativas no desenvolvimento do sistema imunológico e na susceptibilidade a doenças ao longo da vida (JANDHYALA *et al.*, 2015; RUTAYISIRE *et al.*, 2016).

A microbiota intestinal desempenha um papel crucial na digestão de nutrientes, na produção de vitaminas e na modulação do sistema imunológico. Ela contribui para a fermentação de carboidratos não digeríveis, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta, que são importantes para a saúde intestinal e metabólica. Além disso, a microbiota auxilia na proteção contra patógenos, competindo por nutrientes e sítios de adesão, e modulando respostas inflamatórias (KHALIL *et al.*, 2024).

A manutenção de uma microbiota equilibrada, conhecida como eubiose, é essencial para a saúde. Alterações na composição ou função da microbiota, têm sido associadas a diversas condições, incluindo doenças inflamatórias intestinais, obesidade, diabetes tipo 2 e distúrbios neurológicos. Fatores como dieta, estresse, uso de medicamentos e infecções podem contribuir para a disbiose, destacando a importância de estratégias que promovam a saúde da microbiota intestinal (BOULANGÉ *et al.*, 2016).

Um número crescente de estudos demonstra certos padrões de alterações microbianas intestinais em algumas doenças ginecológicas, sugerindo associação entre disbiose intestinal e genital com patologias ginecológicas (ELKAFAS *et al.*, 2022; ZHOU *et al.*, 2024).

Em suma, o microbioma intestinal é um componente vital da fisiologia humana, com funções que transcendem o trato gastrointestinal. A compreensão aprofundada de sua composição, desenvolvimento e interação com o hospedeiro é fundamental

para avaliar possíveis determinações ou interações do microbioma intestinal com o microbioma vaginal.

1.4 Diferenças do Desenvolvimento Sexual

As Diferenças do Desenvolvimento Sexual (DDS), também conhecidas como Distúrbios do Desenvolvimento Sexual, compreendem um grupo heterogêneo de condições congênitas que resultam na discordância entre o sexo cromossômico, gonadal e/ou anatômico de um indivíduo (HUGHES, 2008).

Indivíduos afetados podem ser reconhecidos ao nascimento devido à ambiguidade da genitália externa ou genitália atípica. Outros podem apresentar-se mais tarde com virilização pós-natal, puberdade tardia/ausente ou infertilidade (WITCHEL, 2018).

O termo Distúrbios do Desenvolvimento Sexual (DDS) ou, na língua inglesa, *Disorder of Sex Development* (DSD), foi introduzido no Consenso de Chicago em 2006 para descrever o espectro de estas condições (HUGHES *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2006). O objetivo principal da classificação foi substituir termos como “intersexo, pseudo-hermafroditismo masculino ou feminino e hermafroditismo verdadeiro”, com o intuito de atenuar problemas de terminologias consideradas inadequadas, duvidosas, estigmatizantes, que podem representar constrangimento para esses pacientes, bem como para evitar confusão com condições como transgêneros, disforia de gênero e homossexualidade (PONTES *et al.*, 2022).

Mais recentemente, o termo Diferenças no Desenvolvimento Sexual tem sido defendido como menos pejorativo e ganhou aceitação, enfatizando uma abordagem clínica, ética e genética integrada, visando a individualização do cuidado e o respeito à identidade de gênero (COOLS *et al.*, 2018).

A prevalência das DDS varia consideravelmente conforme o critério diagnóstico adotado. Estima-se que essas condições afetem aproximadamente 1 em cada 4.500 a 5.500 nascidos vivos quando consideradas as formas mais raras, como a disgenesia gonadal completa, e até 1 em cada 100 quando incluídas variações menos evidentes do desenvolvimento sexual (HUGHES, 2008; ARBOLEDA *et al.*, 2014).

A classificação atual das DDS baseia-se principalmente no cariótipo do indivíduo, dividindo-se em três grandes grupos, sendo cada categoria subdividida em grupos secundários que orientam para um diagnóstico específico (Quadro 1).

Quadro 1 – Classificação das diferenças/distúrbios do desenvolvimento sexual em três categorias de acordo com o cariótipo.

Quadro 1. Classificação das diferenças/distúrbios do desenvolvimento sexual em três categorias de acordo com o cariótipo

1. DDS por alterações cromossômicas	2. DDS 46,XY	3. DDS 46,XX
a. Síndrome de Turner (45,X) e variantes b. Síndrome de Klinefelter (47,XXY) e variantes c. Disgenesia gonadal mista (45,X/46,XY) d. DDS ovotesticular (46,XX/46,XY) – quimerismo (duas ou mais populações de células geneticamente distintas com origem em zigotos diferentes)	A. Distúrbios do desenvolvimento gonadal: a. Disgenesia gonadal completa 46,XY (síndrome de Swyer) b. Disgenesia gonadal parcial 46,XY c. Síndrome de regressão testicular d. DDS ovotesticular 46,XY	A. Distúrbios do desenvolvimento gonadal: a. Disgenesia gonadal completa 46,XX b. DDS ovotesticular 46,XX c. DDS testicular 46,XX (SRY+) no homem 46,XX
	B. Distúrbios na síntese ou ação de androgênios: Defeitos na biossíntese dos androgênios: a. Deficiência da 5- α -redutase tipo 2 b. Deficiência da 3- β -hidroxiesteroide desidrogenase c. Deficiência da 17- α -hidroxilase Defeitos na ação dos androgênios: a. Síndrome de insensibilidade completa aos androgênios b. Síndrome de insensibilidade parcial aos androgênios c. Defeitos no receptor de LH (hipoplasia ou aplasia das células de Leydig) d. Distúrbio no AMH ou no seu receptor (síndrome do ducto de Müller persistente)	B. Distúrbios por excesso de androgênios: a. Hiperplasia adrenal congênita (deficiência e ou mutações na 21 ou 11-hidroxilase) b. Deficiência da 3- β -hidroxiesteroide desidrogenase c. Deficiência fetoplacentária da aromatase d. Tumores maternos virilizantes (luteoma) e androgênios exógenos e. Tumores fetais ou placentários produtores de androgênios
	C. Outras: a. Hipospádia severa b. Extrofia de cloaca c. Criptorquidismo	C. Outras: a. Agenesia dos ductos de Müller tipo I e II (síndrome de Mayer Rokitansky-Küster-Hauser) b. Atresia vaginal c. Outras malformações complexas

DDS: diferenças/distúrbios do desenvolvimento sexual; LH: hormônio luteinizante; AMH: hormônio antimülleriano.

Fonte: adaptado de Pontes *et al.*, 2022.

Essa classificação tem sido constantemente revisada à luz de novas descobertas genéticas e do avanço das técnicas de sequenciamento de DNA, que têm identificado novos mecanismos moleculares associados ao desenvolvimento sexual (WITCHEL, 2018).

Considerando o impacto das DDS na qualidade de vida dos indivíduos, a abordagem clínica dessas condições requer um cuidado multidisciplinar, envolvendo

endocrinologistas, geneticistas, urologistas, ginecologistas, psicólogos e assistentes sociais (ADAM *et al*, 2017). Além disso, a transição do cuidado pediátrico para a atenção em saúde do adulto é um desafio, especialmente para garantir o acompanhamento adequado desses pacientes ao longo da vida (GOMEZ-LOBO *et al*, 2016; LEE *et al*, 2016; COOLS *et al*, 2018; AHMED *et al*, 2021).

Entre as causas de DDS acima descritas, algumas se caracterizam por agenesia vaginal, destacando-se a Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (SMRKH) ou Agenesia Mülleriana. Dada sua importância no presente estudo, discorreremos mais detalhadamente sobre esta condição a seguir.

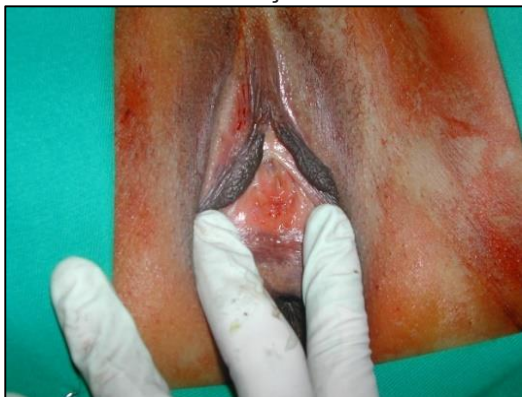
1.5 A Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (SMRKH) ou Agenesia Mülleriana (Agenesia Vaginal)

A Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser é uma anomalia congênita caracterizada por agenesia ou aplasia do útero e parte superior da vagina em mulheres com genitália externa normal e cariótipo feminino (46,XX). Tem uma incidência de 1 por 4.500-5.000 mulheres. É causada pelo subdesenvolvimento embriológico do ducto de Müller, resultando em agenesia ou atresia da vagina, do útero ou de ambos (HERLIN *et al*, 2020; CHEN *et al*, 2022).

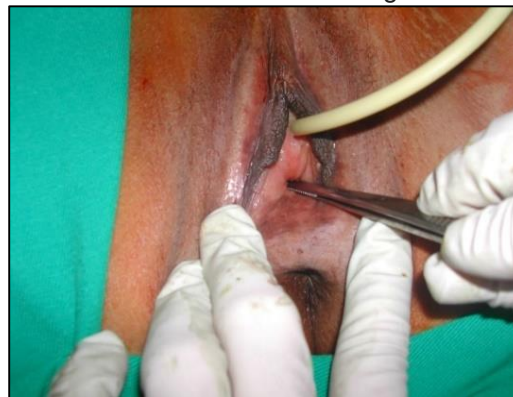
Pacientes com agenesia mülleriana são geralmente identificadas na adolescência, com quadro de amenorreia primária, quando o diagnóstico é estabelecido com implicações significativas, incluindo infertilidade absoluta. Devido à diferente origem embriológica, os ovários são tipicamente normais em estrutura e função, embora possam ter localizações atípicas. Desta forma, apresentam crescimento e desenvolvimento puberal normais. O canal vaginal é marcadamente encurtado e pode aparecer como uma covinha abaixo da uretra (Figura 2). Na maioria dos casos há agenesia uterina (Figura 3), mas um útero remanescente pode estar presente na linha média e cornos uterinos podem existir, com ou sem cavidade endometrial (ACGO, 2018).

Figura 2 - Genitália externa de paciente com SMRKH.

A) Pequenos e grandes lábios sem alterações



B) Diferenciação do meato uretral externo e ausência de orifício vaginal



Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

Figura 3 - Imagem comparativa da pelve feminina com as alterações anatômicas na SMRKH.

Normal



Síndrome de Rokitansky



Fonte: Disponível em: <http://doencas-raras-doem.blogspot.com/2017/03/SMRKH-Sindrome-de-Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser-ou-Agenese-Vaginal-ou-Agenesia-Mulleriana.html>. Acesso em: 12 maio 2025.

A SMRKH é classificada como **tipo I**, em que apenas a parte superior da vagina, o colo do útero e o útero são afetados; e **tipo II**, em que, além da agenesia vaginal, estão associadas outras alterações- renais, esqueléticas, cardíacas e/ou neurológicas, incluindo a condição classificada como MURCS (*Müllerian Renal Cervical Somite*), sendo esta última caracterizada por agenesia mülleriana, agenesia renal e disgenesia de somitos cervicotorácicos (KUMAR *et al.*, 2016; FONTANA *et al.*,

2017; HERLIN *et al.*, 2017).

A etiologia da SMRKH ainda permanece indefinida. Na maioria das vezes, os casos aparecem isolados sem história familiar ou anomalias relacionadas. No entanto, relatos crescentes de prevalência em grupos familiares apontam para causas genéticas e o uso de técnicas genômicas permitiu a identificação de anormalidades genéticas recorrentes em algumas pacientes. Investigações utilizando micro arranjos cromossômicos e sequenciamento de todo o genoma foram bem sucedidos na detecção de variantes genéticas associadas à SMRKH, incluindo 17q12 (LHX1, Deleções de HNF1B) e 16p11.2 (TBX6) e variações de sequência em GREB1L e PAX8, apontando para uma etiologia heterogênea com vários genes envolvidos (FONTANA *et al.*, 2017; HERLIN, PETERSEN, BRÄNNSTRÖM, 2020; BARFFOUR *et al.*, 2021; HERLIN, 2024).

Os passos mais importantes no manejo eficaz da agenesia mülleriana são o diagnóstico correto da condição subjacente, avaliação de anomalias congênitas associadas e aconselhamento psicossocial, além de tratamento ou intervenção para abordar os efeitos funcionais das alterações genitais. O efeito psicológico do diagnóstico de agenesia mülleriana não deve ser subestimado. Todas as pacientes com SMRKH devem receber aconselhamento e encorajadas a participar de grupos de apoio (ACOG, 2018; LISZEWSKA-KAPŁON, *et al.*, 2020).

Com relação ao futuro reprodutivo e à maternidade, a opção da adoção deve ser abordada. Técnicas de reprodução assistida com uso de útero de substituição têm se mostrado bem-sucedidas para mulheres com agenesia mülleriana (FEDELE *et al.*, 2024).

Ensaio clínico com transplante de útero em paciente com agenesia uterina, realizado por uma equipe sueca, seguido pelo primeiro nascido vivo em 2014, possibilitou que mulheres com SMRKH alcancem a maternidade biológica através desta técnica (BRÄNNSTRÖM *et al.*, 2015). Desde então, diversos estudos e procedimentos clínicos têm sido realizados globalmente (BRÄNNSTRÖM *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2016).

No Brasil, em 2016, o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) realizou o primeiro transplante de útero em mulher de 32 anos portadora da SMRKH, a partir de uma doadora falecida, resultando

no nascimento de um bebê saudável em dezembro de 2017 (EJZENBERG *et al.*, 2019). Mais recentemente, em 2024, o HCFMUSP alcançou outro marco ao realizar o primeiro transplante de útero entre pacientes vivas na América Latina, com a receptora apresentando ciclos menstruais regulares após a cirurgia (HCFMUSP, 2024).

Apesar dos avanços, o transplante uterino ainda é considerado experimental e levanta questões éticas, médicas e sociais. Os riscos associados incluem complicações cirúrgicas, rejeição do órgão e os efeitos a longo prazo da imunossupressão necessária. Além disso, debates éticos surgem em torno da seleção de doadoras, consentimento informado e acesso equitativo ao procedimento (DA GRACA, 2021; MARTIN; TULLIUS, 2021; D'AMICO, 2023).

Além da SMRKH, outras DDS podem se manifestar clinicamente com caracteres sexuais secundários femininos com ausência de vagina. A **síndrome da insensibilidade aos andrógenos (SIA)** é um distúrbio genético recessivo ligado ao cromossomo X, sendo a causa mais comum dos DDS 46, XY (MORRIS, 1953). A genitália interna é masculina, com ausência das tubas uterinas, do útero e do terço proximal da vagina. Entretanto, o desenvolvimento da genitália externa, androgênio-dependente, sofrerá alterações no seu desenvolvimento e o desfecho clínico vai depender do grau de insensibilidade androgênica, que varia de acordo com as mutações no gene do receptor androgênico e suas consequências. Conforme o grau de resistência aos androgênios, pode se apresentar clinicamente como **forma completa**, denominada **Síndrome de Insensibilidade Completa aos Androgênios ou Complete Androgen Insensitivity Syndrome (CAIS)**, anteriormente conhecida como Síndrome de Morris, em que as pacientes apresentam um fenótipo feminino, ou **forma parcial ou Síndrome de Insensibilidade Parcial aos Androgênios ou Partial Androgen Insensitivity Syndrome (PAIS)**, que tem um amplo espectro de fenótipos, do predominantemente feminino ao predominantemente masculino (GULÍA *et al.*, 2018; MILLER *et al.*, 2021; DELLI *et al.*, 2023).

Entre os defeitos na biossíntese da testosterona (DDS 46, XY), destaca-se a **deficiência de 5-alfa-redutase**. Esta enzima promove a conversão de testosterona (T) em dihidrotestosterona (DHT), que é o principal hormônio responsável pela virilização da genitália externa. Assim, os níveis de DHT são extremamente baixos ao nascimento. A genitália externa em geral é feminina e a criança é usualmente registrada no sexo feminino. No entanto, o diagnóstico pode ser suspeitado ao

nascimento, na presença de genitália atípica (hipospádia e clitoromegalia) e/ou gônadas palpáveis em região inguinal ou lábio escrotal. Na puberdade, por aumento da conversão periférica de T em DHT, pode ocorrer virilização e mudança na identidade de gênero (PONTES *et al.*, 2022; MEAC, 2024).

A **diferença do desenvolvimento sexual (DDS) ovotesticular** é uma condição rara caracterizada pela presença concomitante de **tecido testicular** e **tecido ovariano** em um mesmo indivíduo. A forma mais clássica envolve a presença de um **ovotestículo** (estrutura contendo tanto túbulos seminíferos quanto folículos ovarianos), ou de um testículo de um lado e um ovário do outro. Esta condição era anteriormente conhecida como **hermafroditismo verdadeiro**, terminologia atualmente em desuso por razões éticas e científicas. Do ponto de vista **citogenético**, a maioria dos casos apresenta cariótipo **46,XX**, sendo menos comuns os casos com **46,XY** ou **mosaicismos** como **46,XX/46,XY**. O cariótipo 46,XX/46,XY, que corresponde a um **quimerismo**, resulta da fusão de dois embriões diferentes em estágios iniciais do desenvolvimento - um com cariótipo 46,XX e outro com 46,XY - originando um indivíduo com linhagens celulares geneticamente distintas (WEIDLER *et al.*, 2019; SYRYN *et al.* 2023).

1.6 Tratamento da agenesia vaginal e a neovaginoplastia

O principal objetivo do tratamento da agenesia vaginal é criar um canal vaginal com diâmetro e comprimento vaginais adequados, direção axial e lubrificação apropriadas para promover uma relação sexual satisfatória à paciente (GEORGAS *et al.*, 2018).

Os métodos terapêuticos com este objetivo podem ser divididos em **não cirúrgicos** e **cirúrgicos** (LISZEWSKA-KAPŁON, *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2022).

O alongamento vaginal não cirúrgico por dilatação (FRANK, 1938) deve ser a abordagem de primeira linha. É uma técnica não invasiva e econômica, envolvendo o uso prolongado de dilatadores vaginais pela paciente. Dilatadores de tamanhos crescentes são colocados dentro da covinha vaginal com uma pressão manual intermitente e progressiva para criar uma cavidade vaginal (Figura 4).

Figura 4 - Dilatadores vaginais de silicone utilizados no tratamento da Síndrome de Rokitsky.



Fonte: INSTITUTO ROKI (s.d.).

O sucesso do tratamento depende da autodisciplina e persistência da paciente. Sua aceitação é limitada pela dor física e tensão psicológica e o resultado só pode ser sustentado se ocorrer atividade sexual regular, não sendo eficaz para mulheres sem parcerias. Quando bem orientadas e preparadas emocionalmente, estima-se que quase todas as pacientes (90-96%) serão capazes de obter sucesso anatômico e funcional pela dilatação vaginal primária (ACOG, 2018). No entanto, o método está associado a algumas desvantagens, tais como, prolapso vaginal (causado pela ausência de estruturas de suporte vaginal), cicatrizes locais, além de trauma accidental da uretra durante a introdução do molde (BRUCKER *et al.*, 2011).

Diante da impossibilidade ou da falha do alongamento vaginal não cirúrgico com o uso de dilatadores vaginais, a terapêutica indicada é a cirurgia de reconstrução vaginal ou neovaginoplastia. São diversas as técnicas cirúrgicas de neovaginoplastia descritas, existindo riscos e benefícios para cada técnica, sendo a estenose vaginal uma das complicações mais comuns (DIETRICH, 2022).

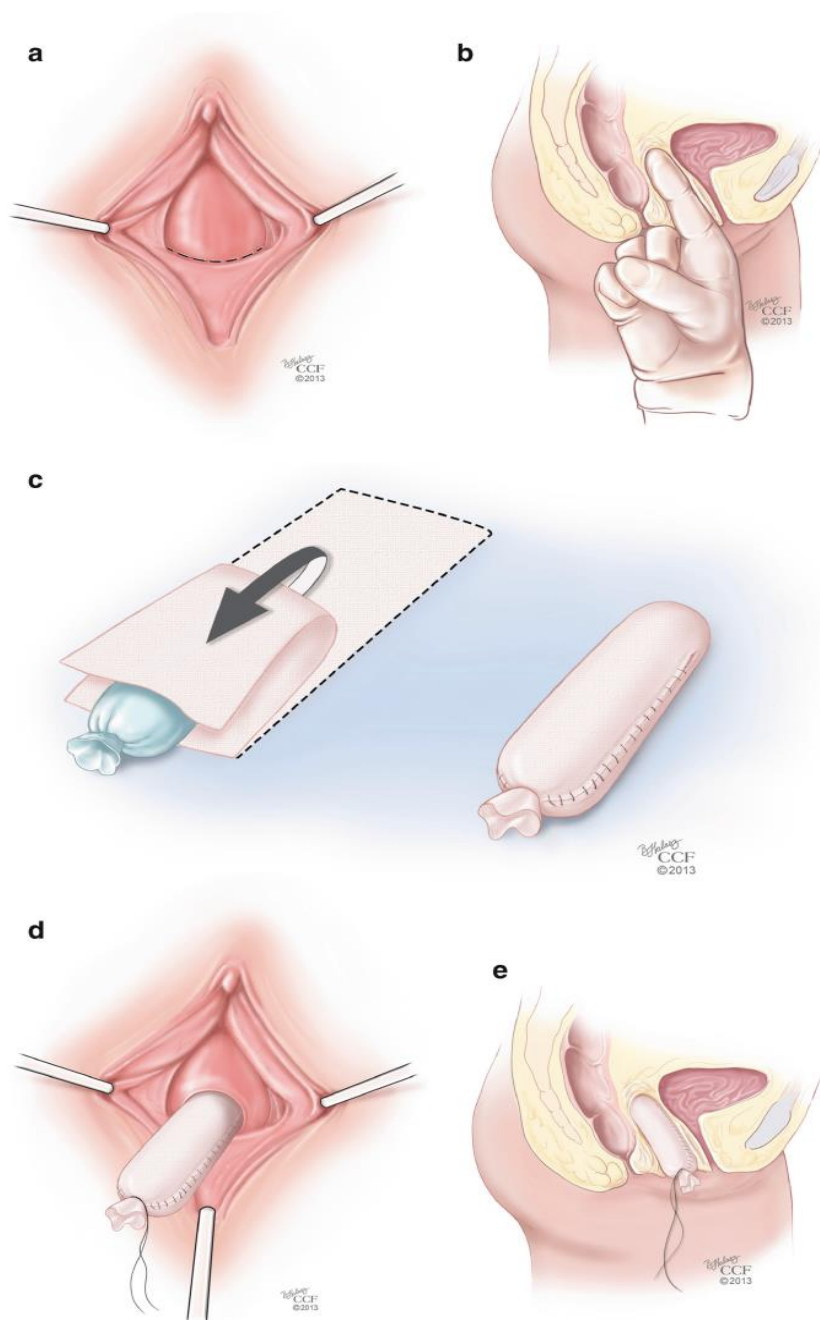
Historicamente, o procedimento mais usado para neovaginoplastia tem sido a cirurgia de McIndoe (McINDOE *et al.*, 1938). O primeiro passo desta técnica é fazer uma incisão em forma de H no períneo. A seguir, é realizada a dissecação de um espaço entre o reto e a bexiga, com a colocação de um molde coberto com enxerto de pele da coxa, da região glútea ou do abdome inferior. O molde é fixado dentro do espaço, com a face cruenta voltada para fora com o objetivo de promover a epitelização da

neovagina criada.

O molde permanece na cavidade por cerca de 10 a 14 dias e durante este período, a neovagina é irrigada com solução salina. Após duas semanas, este molde é retirado e as pacientes são orientadas a utilizar um novo molde diariamente, para promover a dilatação vaginal, por pelo menos 6 meses (BOMBARD *et al.*, 2014).

A Figura 5 representa as etapas da técnica de McIndoe utilizada para neovaginoplastia em pacientes com condições que cursam com agenesia ou estenose vaginal.

Figura 5 - Resumo ilustrativo da técnica de McIndoe.



A) A covinha na área introital é identificada. Os lábios são afastados e uma incisão transversal é feita no epitélio. B) Criação de lúmen neovaginal, através de dissecação romba com os dedos no espaço entre a bexiga e o reto. C) Enxerto de pele fixado em molde flexível. D e E) Fixação do molde na cavidade criada.

Fonte: THOMAS, 2020.

A neovaginoplastia em mulheres com agenesia vaginal pode ser realizada utilizando diferentes enxertos e biomateriais, cada um com vantagens e desvantagens específicas. A escolha do material impacta diretamente nos resultados anatômicos, funcionais e psicológicos das pacientes (CHOUSSEIN *et al.*, 2017).

Não há consenso na literatura sobre o material empregado para o

revestimento da neovagina. Além de enxerto de pele, diversas opções são mencionadas, como peritônio (DAVYDOV *et al.*, 1974), segmentos intestinais (GHOSH, KWAUWUKUME, 1994), aloenxertos de membrana amniótica humana (BRINDEAU, 1934), tecido vaginal autólogo cultivado *in vitro* (BENEDETTI *et al.*, 2014) e materiais sintéticos (SUETERS *et al.*, 2023).

O uso de segmentos intestinais, como o sigmoide, oferece uma neovagina com lubrificação natural, mas está associado a riscos de prolapsos mucosos, secreção excessiva e complicações intestinais (BOMBARD, 2014; WILLEMSSEN, KLUIVERS., 2015). Enxertos de mucosa oral e membrana amniótica são opções menos comuns, com limitações quanto à disponibilidade e viabilidade a longo prazo (LIN *et al.*, 2003; VATSA *et al.*, 2017).

Embora amplamente utilizados, os enxertos de pele podem apresentar desvantagens, como necessidade de área doadora, cicatrizes estigmatizantes, fâneros (pelos) vaginais, rejeição do enxerto, granulomas, risco de contratura secundária e ausência de sensibilidade na neovagina. Além disso, há relatos de maior tempo de recuperação e complicações associadas ao local doador, como dor local e formação de queloides (CALLENS *et al.*, 2014; AMIES, KIRBY, BREECH, 2017).

1.7 O Ambulatório de Adolescentes da Maternidade- Escola Assis Chateaubriand (MEAC) e a Neovaginoplastia com Pele Autóloga no Ceará – Breve Histórico

A Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC) é uma unidade do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada em Fortaleza, sendo vinculada à Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH).

O Serviço de Adolescentes da MEAC, oficialmente cadastrado como “Ambulatório de Tocoginecologia Infanto Puberal e Adolescência”, por atender obstetrícia e ginecologia em crianças e adolescentes. Foi fundado em 1987 pela professora Zenilda Vieira Bruno, médica ginecologista, sendo um dos serviços pioneiros do país especializado no acompanhamento do público jovem feminino (UFC, 2017).

O serviço é referência em orientação para planejamento sexual e reprodutivo, com oferta de métodos contraceptivos reversíveis de longa duração (LARC- *long-acting reversible contraceptives*) - tais como, Dispositivos Intra-Uterinos (DIUs) não

hormonais e hormonais e implante anticoncepcional de etonogestrel (Implanon®)-anticoncepcionais hormonais injetáveis e orais, sendo destaque em pesquisas acadêmicas e científicas e na assistência em prevenção da gravidez na adolescência e de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs).

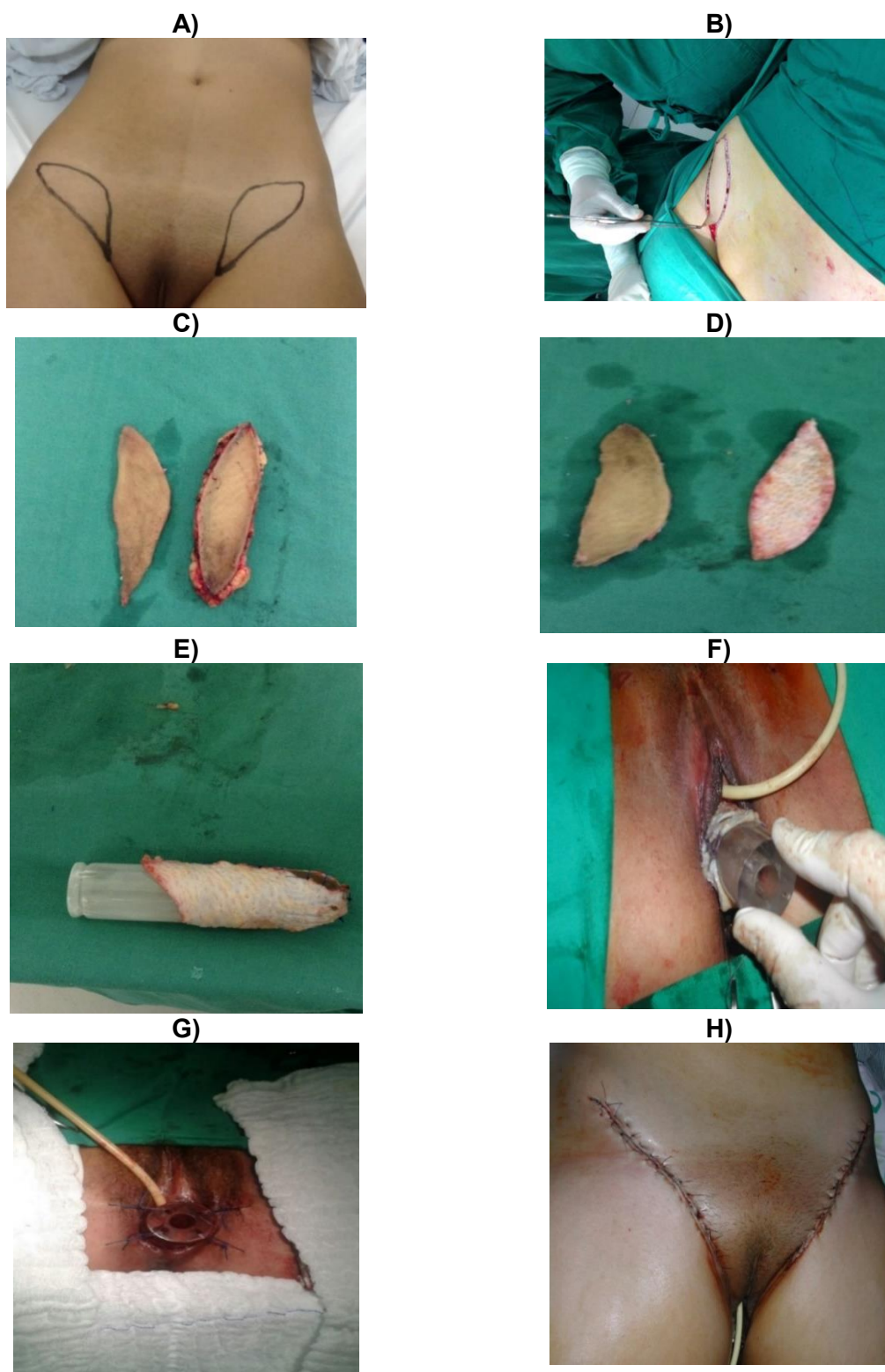
A partir dele surgiram ainda: a Comissão de Maus Tratos a Crianças e Adolescentes; o Programa Superando Barreiras (atendimento de mulheres em situação de violência sexual); o Serviço de Sexualidade Humana e o Ambulatório de Diferenças do Desenvolvimento Sexual, sendo este último criado em março de 2019 e constituído por uma equipe de profissionais da área de Psicologia, Serviço Social, Enfermagem, Fisioterapia, Ginecologia e Obstetrícia Endocrinologia e Genética Médica.

No Ceará, o Serviço de Adolescentes da MEAC foi pioneiro na cirurgia de neovagina em pacientes com síndrome de Rokitansky e outras DDS, independentemente da faixa etária. Segundo registros do serviço, até 2016 foram feitas 28 cirurgias de neovaginoplastia com enxerto de pele da própria paciente (autóloga). Durante este período o procedimento era realizado pela mesma profissional, Dra. Zenilda Vieira Bruno, utilizando a técnica de McIndoe.

Devido ao fato de a maioria das mulheres se sentirem incomodadas com as cicatrizes deixadas pela técnica convencional e dado o estigma associado às DDS, a técnica de McIndoe foi modificada (BRUNO *et. al*, 2017), retirando-se o enxerto de pele da região inguinal (ao invés da região glútea ou coxa) para evitar cicatrizes expostas (Figura 6 - A e B). Quanto ao preparo do enxerto, retirava-se o máximo de tecido subcutâneo para se obter uma amostra fina de pele (Figura 6 - C e D).

Assim como na técnica original de McIndoe, as amostras de pele para enxerto eram colocadas sobre molde rígido de acrílico e suturadas com fio absorvível utilizando nós cirúrgicos separados. O lado queratinoso era colocado voltado para o molde para permitir que o lado vascular se fixasse e revascularizasse (Figura 6 - E). Em seguida, era feita uma incisão mediana no introito vaginal criando um túnel entre a bexiga e o reto onde se colocava o molde (Figura 6 - F e G). A área doadora do enxerto (região inguinal) era suturada utilizando-se fios não absorvíveis (Figura 6 - H).

Figura 6 - Etapas da cirurgia de neovaginoplastia com pele autóloga na MEAC.

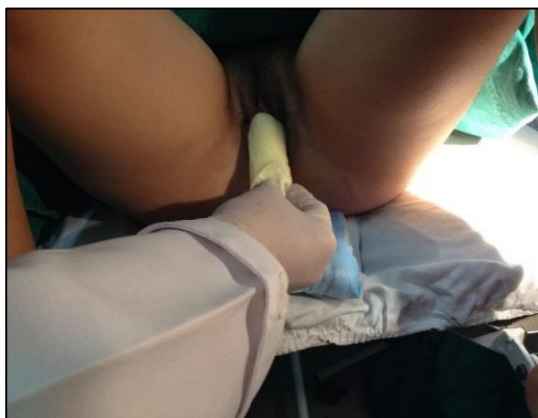


A) Marcação da pele para retirada de enxerto cutâneo; B) Incisão em formato de folha na região inguinal; C) Pele inguinal bilateral retirada para enxerto; D) Detalhes da face externa e interna (cruenta) da pele; E) Molde envolto pela pele com a face cruenta voltada para fora; F) Introdução do molde envolto por pele na cavidade neovaginal criada; G) Molde fixado à pele; H) Região inguinal após sutura.

Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

No pós-operatório, a paciente permanecia deitada com sonda vesical de demora e molde acrílico por 8 a 10 dias. Após esse período, o molde era substituído por outro molde flexível feito com esponja coberta com preservativo, que permitia a paciente sentar e caminhar. Na alta, a paciente era orientada a utilizar o molde flexível todos os dias durante um mês até que houvesse cicatrização completa. Em seguida, a paciente era orientada a utilizar o molde flexível apenas à noite, enquanto dormia (Figura 7).

Figura 7 - Molde flexível feito de esponja e preservativo utilizado após a alta da paciente.



Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

Após três meses, já se orientava o início das relações sexuais, o que contribuiria para evitar o estreitamento da abertura vaginal. O acompanhamento ambulatorial era realizado em um, três e seis meses após a cirurgia. Depois disso, o seguimento se tornava anual. Todas as pacientes recebiam apoio psicológico na mesma instituição desde o diagnóstico até o pós-operatório.

As figuras 8 e 9 representam resultados pós-operatórios de neovaginoplastia com enxerto de pele da região inguinal.

Figura 8 - Resultado de pós-operatório de neovaginoplastia com pele autóloga.



Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

Figura 9 - Cicatrização de região inguinal, após retirada de pele para enxerto de neovaginoplastia.



Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

A retirada da pele da região inguinal, embora com cicatriz mais discreta que a tradicional na técnica de McIndoe, também leva a dor no pós-operatório e tem potencial de infecção, formação de quelóide ou cicatrizes mais extensas

A neovaginoplastia com pele autóloga foi realizada na MEAC até 2016. A partir de então, um experimento inovador trouxe nova perspectiva para o tratamento cirúrgico da agenesia vaginal, promovendo importante melhoria na vida sexual de muitas mulheres, ganhando repercussão nacional e internacional.

1.8 Pele de Tilápia do Nilo- A experiência de um novo biomaterial

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe de água doce originário da bacia do rio Nilo no Leste da África e se encontra amplamente disseminada nas

regiões tropicais e subtropicais. É frequentemente cultivada na aquicultura, sendo conhecida por suas propriedades nutritivas e capacidade de adaptação a diferentes ambientes (FURUYA, CRUZ, 2023; GELETU ZHAO, 2023; XIONG *et al.*, 2023).

No Ceará, a piscicultura da tilápia está difundida em diversos reservatórios, nas principais bacias hidrográficas do Estado, sendo o açude Castanhão (localizado nos municípios de Jaguaribara, Alto Santo, Jaguaribe e Jaguaretama) seu principal produtor (MUNOZ *et al.*, 2015).

A pele deste peixe é um produto nobre e de alta qualidade, possuindo características peculiares (FRANCO *et al.*, 2013).

O uso da pele de tilápia como biomaterial no tratamento de queimaduras representou uma inovação significativa na medicina regenerativa brasileira. A ideia surgiu em 2011, quando o cirurgião plástico pernambucano Marcelo José Borges de Miranda percebeu o potencial terapêutico da pele de tilápia, até então descartada como resíduo da piscicultura. Em 2014, ele compartilhou essa visão com o cirurgião plástico cearense Edmar Maciel Lima Júnior, que, junto ao pesquisador Odorico Moraes, coordenador do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC), iniciou os estudos clínicos e laboratoriais no Ceará (LIMA JUNIOR *et al.*, 2020a).

Esses estudos demonstraram que a pele de tilápia apresenta morfologia semelhante à pele humana com alta resistência e extensão de tração na ruptura, evidenciando rica composição de colágeno do tipo I (LIMA JUNIOR *et al.*, 2016; ALVES *et al.*, 2018; LIMA VERDE *et al.*, 2021). Além disso, a análise microbiológica de amostras de pele de tilápia antes do processo de esterilização química indicaram a presença de microbiota não infecciosa (LIMA JUNIOR *et al.*, 2016).

Por estas características, a pele da tilápia liofilizada foi inicialmente sugerida como opção de material biológico para manejo de queimaduras, tendo sido testada em modelos animais, apresentando boa aderência em feridas causadas por queimaduras de segundo grau em ratos testados, com bons resultados no processo de cicatrização e sem alterações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos (LIMA JUNIOR *et al.*, 2017).

Ensaio clínicos randomizados avaliaram a eficácia da pele de tilápia como curativo oclusivo de xenoenxerto para o tratamento de queimaduras em humanos

(adultos e crianças), observando que nos participantes tratados com pele de tilápia a reepitelização completa ocorreu em um número significativamente menor de dias, a intensidade da dor relatada e a quantidade de anestésicos/analgésicos necessária foram menores, e a necessidade de troca de curativos foi significativamente reduzida em comparação com voluntários tratados com sulfadiazina de prata (COSTA *et al.*, 2019; LIMA JUNIOR *et al.*, 2020).

Estes resultados revelaram a atividade de cicatrização de feridas e ausência de toxicidade e antigenicidade da pele da tilápia, possibilitando futuras investigações para sua utilização como curativo biológico em outras aplicações.

Antes de serem disponibilizadas para o uso como biomaterial, as peles de tilápia são inicialmente retiradas mecanicamente dos peixes na piscicultura Bomar, lavadas em água corrente, armazenadas em recipientes plásticos estéreis e em gelo. As peles armazenadas são transportadas ao laboratório (sala limpa) do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (NPDM-UFC). O processo de obtenção de pele de tilápia liofilizada consiste em várias etapas meticulosas para garantir a qualidade e segurança do produto final, conforme se segue:

a) Limpeza e Preparação

As peles são cuidadosamente limpas com soro fisiológico e os bordos são recortados para remover qualquer impureza ou tecido indesejado.

b) Incubação

As peles são colocadas em um recipiente estéril, onde são incubadas em uma solução de gluconato de clorexidina a 2% por 60 minutos para garantir a desinfecção adequada.

c) Enxágue e Congelamento

Após a incubação, as peles são enxaguadas com soro fisiológico e congeladas em temperaturas entre -20°C e -80°C por um período de 8 a 24 horas para preservar sua integridade.

d) Liofilização

As peles congeladas são submetidas a um processo de liofilização a frio em um liofilizador, onde são expostas a temperaturas entre -30°C e -80°C com uma

pressão interna inferior a 4,0 μ Hg por um período de 2 a 24 horas. Isso remove a água por sublimação, preservando a estrutura e propriedades da pele.

e) Selagem a Vácuo

Após a liofilização, as peles são seladas a vácuo em embalagens plásticas com espessura de 0,15 a 0,20 μ m para garantir sua integridade e prolongar sua vida útil.

f) Esterilização

Finalmente, as embalagens seladas são esterilizadas utilizando radiação Gama-Cobalto 60, com uma carga entre 5 e 50 kilograys, para eliminar quaisquer microrganismos patogênicos e garantir a segurança microbiológica do produto final.

Essas etapas são essenciais para se obter pele de tilápia liofilizada de alta qualidade, que pode ser utilizada em diversas aplicações. Após este processo, as peles são fornecidas gratuitamente para os projetos de pesquisa (LIMA JUNIOR *et al.*, 2020).

A figura 10 resume as etapas do processo de liofilização da pele de tilápia.

Figura 10 -Etapas do processamento da pele de tilápia.

1 PREPARAÇÃO DA PELE

Na empresa de pescados que fornece o material aos pesquisadores da UFC, a pele é retirada do peixe por uma máquina, lavada e armazenada em uma caixa isotérmica



2 LIMPEZA

Pesquisadores raspam o material para retirada de restos de músculo e fazem o recorte da pele, que é transferida para frascos onde será descontaminada



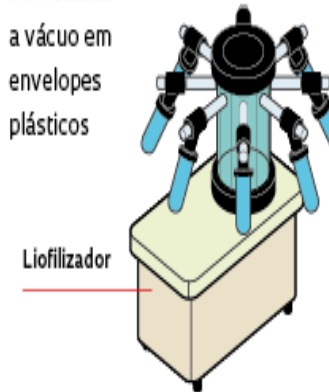
3 DESCONTAMINAÇÃO

A pele é incubada sob agitação constante à temperatura ambiente em quatro diferentes soluções de descontaminação



4 DESIDRATAÇÃO

O material é congelado a -80°C durante 16 horas, liofilizado (desidratado) e embalado a vácuo em envelopes plásticos



5 RADIOESTERILIZAÇÃO

No Ipen, em São Paulo, a pele sofre radiação ionizante por cinco horas para eliminar microrganismos. Depois de ser reidratada com soro fisiológico, está pronta para uso



Fonte: Imagem adaptada de material cedido por Carlos Roberto Koscky Paier (UFC) e Monica Mathor (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN).

Em dezembro de 2024, a Universidade Federal do Ceará (UFC) concluiu o processo de registro da patente do biomaterial à base de pele de tilápia liofilizada e aguarda a aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Após a aprovação, o produto poderá ser incluído em kits de curativos biológicos destinados ao tratamento de queimaduras em humanos (UFC, 2025).

A UFC abriu um edital de licitação para que empresas capacitadas possam produzir o biomaterial em larga escala, ampliando o acesso da população a esse tratamento inovador (PORTO, 2025; ZAMPIERI, 2025). A possibilidade de produção em escala comercial representam avanços significativos para a incorporação desse biomaterial no Sistema Único de Saúde (SUS), oferecendo uma alternativa de biomaterial acessível, eficaz e de baixo custo.

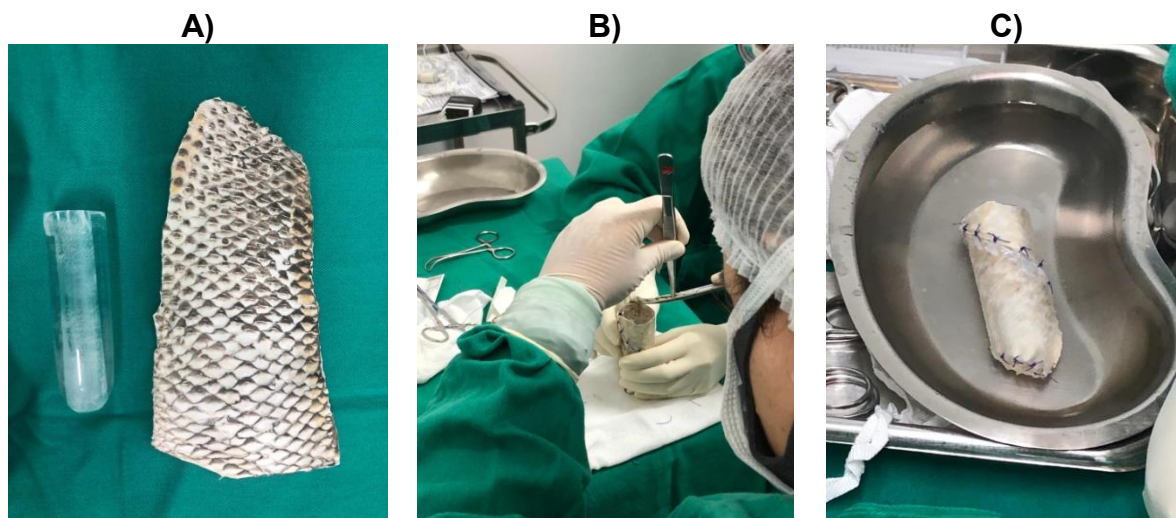
1.9 A Neovaginoplastia com Pele de Tilápia do Nilo- Um Experimento Inovador

Após o sucesso dos resultados do uso da pele de tilápia como curativo em queimaduras publicados por LIMA JÚNIOR *et al.* (2020), surgiu a ideia da utilização deste biomaterial para substituir a pele da paciente nas cirurgias de neovaginoplastia realizadas na MEAC. A proposta se apresentava promissora na medida em que trazia a possibilidade de oferecer importantes vantagens como a redução do tempo cirúrgico, a ausência de cicatriz abdominal ou inguinal, diminuindo a dor da paciente e a morbidade pós cirúrgica (DIAS *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020).

O professor Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra, em parceria com a professora Zenilda Vieira Bruno, chefe da Divisão Médica do hospital escola, desenvolveram, assim, a técnica de neovaginoplastia com pele de tilápia, buscando uma alternativa aos auto enxertos de pele humana (BASSETTE, 2018).

O experimento pioneiro foi realizado na MEAC em uma jovem de 17 anos com quadro de amenorreia primária e diagnóstico de SMRKH (DIAS *et al.*, 2019). A paciente foi submetida à neovaginoplastia pela técnica de McIndoe, sendo a pele de tilápia liofilizada utilizada em substituição ao enxerto de pele. O molde foi revestido com pele de tilápia, sendo que a face externa da pele ficou em contato com o molde acrílico (Figuras 11), enquanto a parte interna branca da pele da tilápia ficou em contato com as paredes da neocavidade (Figura 12).

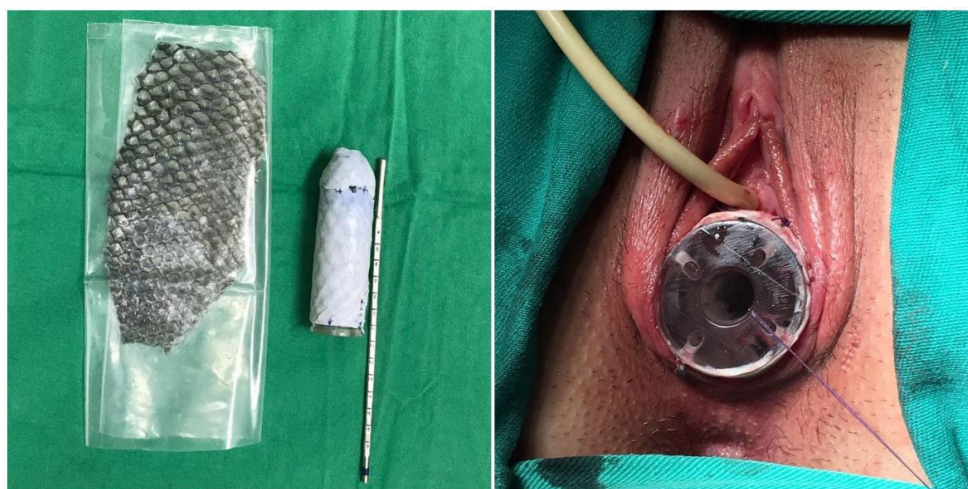
Figura 11. - Preparo da pele de tilápia durante a neovaginoplastia.



A) Pele de tilápia liofilizada e molde de acrílico; B) Molde sendo envolvido por pele de tilápia C) Molde preparado para procedimento cirúrgico.

Fonte: BRUNO, Z. V. Arquivo pessoal.

Figura 12 -Molde vaginal acrílico antes e depois da inserção no canal recém-criado.



Fonte: Adaptado de DIAS *et al*, 2020.

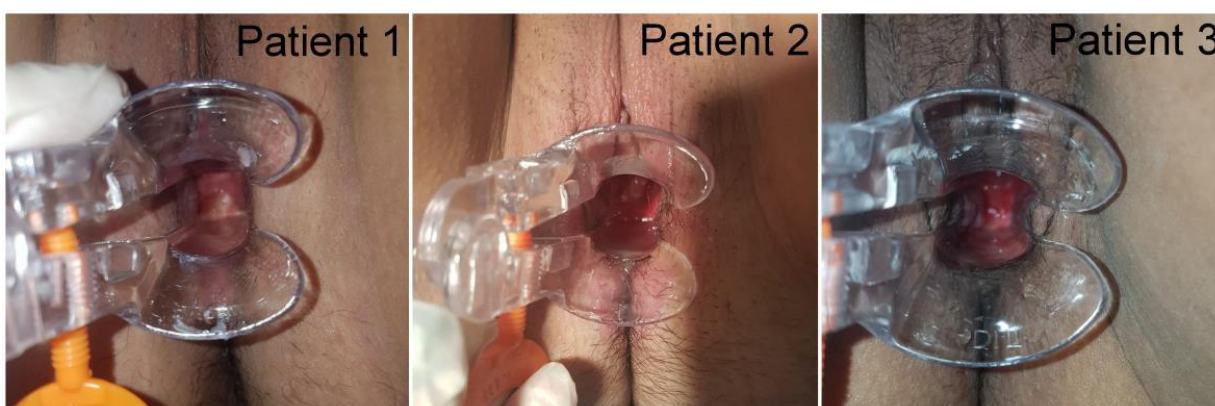
A paciente permaneceu em repouso no leito por 9 dias, após os quais a pele da tilápia foi parcialmente reabsorvida. Após esse período, o molde de acrílico foi removido. Um molde de plástico maior foi inserido e a paciente foi orientada a usá-lo dia e noite durante o primeiro mês pós-operatório. O molde vaginal teve que ser usado todas as noites até que a relação sexual normal fosse possível. O comprimento final do canal 180 dias após a cirurgia foi entre 8 e 9 cm. Para a análise histopatológica, fragmentos da parede vaginal lateral foram removidos 180 dias após a cirurgia e

mostraram a presença de epitélio escamoso estratificado com cinco camadas de células, vasos sanguíneos ectásicos e, ocasionalmente, células epiteliais descamadas semelhantes ao epitélio vaginal normal (DIAS *et al.*, 2019a).

No ano seguinte, um estudo de série de casos, avaliou a utilização da pele de tilápia como biomaterial em cirurgia de neovaginoplastia em três pacientes do Ambulatório de DDS da MEAC, portadoras de SMRKH, que tiveram falha nas tentativas de dilatação vaginal com uso de moldes (DIAS *et al.*, 2020).

Durante a avaliação de 60 dias após a cirurgia, ao se realizar o exame ginecológico, observou-se a formação de uma neovagina com largura de aproximadamente duas polpas digitais nas 03 pacientes estudadas (Figura 13).

Figura 13 - Exame especular após 60 dias da cirurgia de neovaginoplastia.



Fonte: Adaptado de DIAS *et al.*, 2020.

Foi observado que, quando a dilatação pós cirúrgica foi realizada corretamente, um comprimento vaginal maior que 6 cm foi mantido em um seguimento de 180 dias de pós-operatório, oferecendo uma neovagina anatômica e funcional por meio de um método simples e potencialmente eficaz.

Recente estudo descritivo, em busca de material acessível, econômico e com baixo risco de complicações, avaliou o uso da pele de tilápia em 11 pacientes submetidas à neovaginoplastia. O método ofereceu uma neovagina anatômica e funcional de forma eficiente, rápida e segura (TORRES *et al.*, 2022).

Foram ainda descritos relatos de casos com uso de pele de tilápia para neovaginoplastia após cirurgia de redesignação sexual (RODRÍGUEZ *et al.*, 2020;

SLONGO *et al.*, 2020) e na estenose vaginal induzida por radiação em paciente com oclusão total do canal vaginal após radioterapia para câncer de vagina, com resultados satisfatórios (DIAS *et al.*, 2019).

1.10 A Microbiota Neovaginal

Poucos são os estudos que avaliaram a microbiota vaginal de pacientes após neovaginoplastia. Ressalte-se que a maioria deles aborda dados de microbiota avaliada por bacterioscopia ou técnicas baseadas em cultivo (TOOLENAAR *et al.*, 1993; QIN *et al.*, 2019; TEÓFILO *et al.*, 2023), sendo mais escassos estudos com achados de análise de tecnologias de metagenômica (CHEN *et al.*, 2024). Na maior parte dos casos, o foco tem sido a neovagina de indivíduos transgêneros, onde um ambiente polimicrobiano geralmente foi identificado (BIRSE *et al.*, 2020; KRAKOWSKY *et al.*, 2022; ROJAS-VARGAS *et al.*, 2025).

Através de técnicas de metaproteômica, um estudo analisou o microbioma neovaginal de 05 (cinco) mulheres trans, submetidas à cirurgia de redesignação sexual, com a construção de neovagina com inversão peniana ou enxerto escrotal, com (n= 01) ou sem enxerto (n= 04) de colón sigmoide, e comparou com o microbioma vaginal de mulheres cis (n=32). Foram encontradas 541 proteínas únicas de 38 táxons. Os táxons mais abundantes nas neovaginas foram *Porphyromonas* (30,2%), *Peptostreptococcus* (9,2%), *Prevotella* (9,0%), *Mobiluncus* (8,0%) e *Jonquetella* (7,2%), enquanto as vaginas cis (doravante denominadas vaginas normais) eram principalmente *Lactobacillus* e *Gardnerella*. As neovaginas apresentaram maior diversidade alfa em comparação às vaginas cis e eram mais semelhantes às vaginas cis de não *Lactobacillus* dominantes/polimicrobianas com base na diversidade beta. Assim, as comunidades polimicrobianas abrigadas na neovagina revestida pela pele do pênis eram bastante distintas da microbiota da vagina de mulheres cisgênero adultas e apresentavam semelhanças na composição com um pênis não circuncidado (BIRSE *et al.*, 2020).

Outro estudo descreveu o microbioma neovaginal de indivíduos transgêneros e não binários de gênero (TGNB) utilizando técnicas não baseadas em cultura. *Swabs* vaginais foram auto coletados de 15 participantes TGNB saudáveis auto identificadas e 8 participantes cisgênero para comparação. O sequenciamento de RNA ribossômico 16S de última geração foi utilizado para traçar o perfil das comunidades bacterianas

individuais de todas as amostras do estudo. A coorte TGNB demonstrou diversidade intra-individual (alfa) significativamente maior do que no grupo cisgênero ($p = 0,0003$). Espécies microbianas comensais ao intestino e à pele foram identificadas apenas em espécimes de participantes do grupo TGNB. As espécies de *Lactobacillus* foram dominantes em todas as amostras cisgênero, enquanto apresentaram baixa abundância relativa ($\leq 3\%$) em amostras de TGNB. Observou-se que, em contraste com vaginas cis, as neovaginas não foram dominadas por *Lactobacillus*, mas foram hospedeiras de muitas espécies microbianas (WINSTON *et al.*, 2024).

Com o objetivo de realizar uma revisão sistemática do conhecimento atual sobre o microbioma da neovagina em mulheres transgênero, um estudo avaliou dez artigos em que as técnicas cirúrgicas incluíram vaginoplastia de inversão peniana (PIV) e vaginoplastia intestinal/sigmoide. As neovaginas submetidas à PIV foram mais semelhantes às cis vaginas com vaginose bacteriana, enquanto a neovaginoplastia intestinal resultou em microbiomas comparáveis o do cólon e reto e concluíram que o microbioma da neovagina é distinto daquele da cis vagina e também difere de acordo com a técnica cirúrgica (STOEHR; MOSS; JAHROMY, 2023).

Recente revisão sistemática avaliou a colonização e os padrões inflamatórios vaginais de pacientes submetidas à neovaginoplastia. Foram incluídos 13 artigos, com um total de 458 pacientes, sendo as construções neovaginais mais comumente realizadas com enxertos de pele peniana e escrotal (nos casos de cirurgia de redesignação sexual em mulheres trans), segmentos sigmóides e enxertos peritoniais (incluindo os casos de agenesia vaginal). A microbiota neovaginal era geralmente polimicrobiana e compartilhava semelhanças com o tecido nativo. *Lactobacillus* foram identificados em 9 estudos (5 de 6 para pele peniana, 1 de 3 para sigmoide, 1 de 1 para peritônio e 2 de 3 para outros tipos de enxerto) (MORA *et al.*, 2022).

Com relação aos achados de microbiota em pacientes com agenesia vaginal, um estudo investigou as características micro ecológicas de neovaginas de 54 pacientes após neovaginoplastia peritoneal laparoscópica, através de achados de microscopia, coloração de Gram e medida do pH vaginal. As pacientes foram classificadas em dois grupos de acordo com o período pós-operatório: período pós-operatório ≥ 2 anos (período médio de 56,7 meses, 23 pacientes), período pós-operatório < 2 anos (período médio de 10,1 meses, 31 pacientes). Aproximadamente 57,4% das pacientes apresentaram pH vaginal $\leq 4,5$ e não foram encontradas

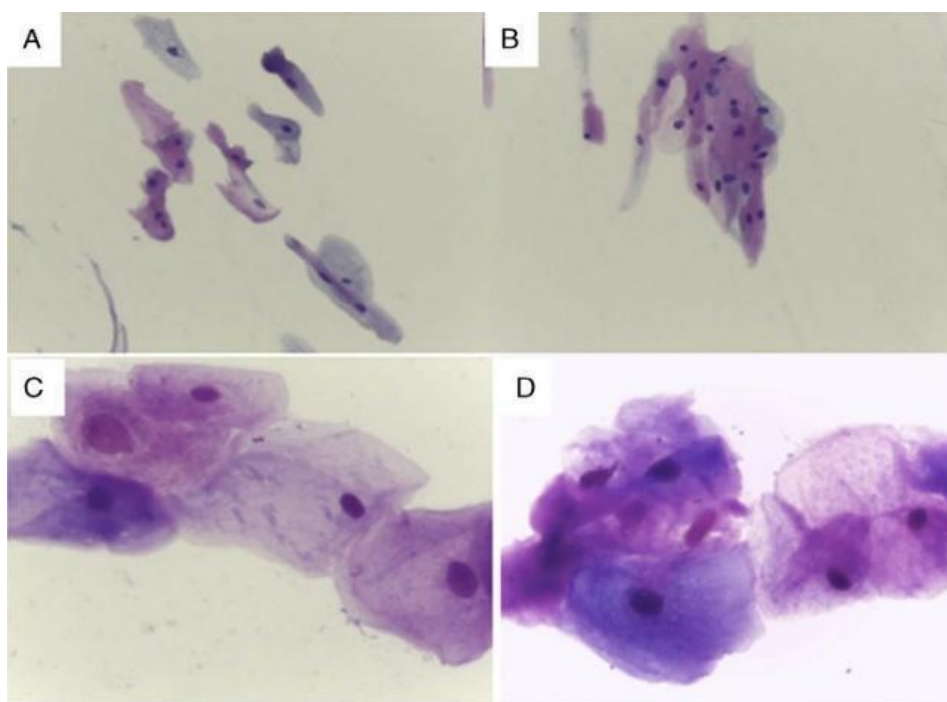
bactérias patogênicas nas amostras avaliadas. Um padrão de disbiose vaginal foi observado em 53,7% das pacientes, com maior prevalência no grupo com menos de 2 anos de pós-operatório (64,5%) em comparação ao grupo com 2 anos ou mais (39,1%), com tendência a um aumento de *Lactobacillus* após a epitelização escamosa (QIN *et al.*, 2019).

Mais recentemente, utilizando técnicas de análise metagenômica, estudo longitudinal investigou a composição da microbiota da neovagina de pacientes com síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) submetidas à vaginoplastia peritoneal laparoscópica. A pesquisa longitudinal acompanhou 39 mulheres por até quatro anos, analisando a evolução microbiana em diferentes períodos de seguimento, com coletas de amostras vaginais em momentos diferentes: 0 a 2 dias antes da cirurgia (amostras coletadas na topografia da “covinha” vaginal) e em 14 dias, 3 meses, 6-12 meses e 2-4 anos após a cirurgia. As espécies mais comuns encontradas na covinha vaginal no pré-operatório foram *Lactobacillus iners*, *Prevotella timonensis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Lactobacillus crispatus*, *Prevotella disiens* e *Gardnerella vaginalis* e representaram mais de 75% da abundância relativa média e também estavam entre as 10 principais espécies nas referências saudáveis. Na fase inicial pós-cirúrgica (0-6 meses), a colonização microbiana foi aleatória, com predominância de *Enterococcus faecalis* e *Mycoplasma genital*. Durante o período intermediário (6-12 meses), a microbiota da neovagina começou a se assemelhar à de uma vagina natural, embora com características semelhantes à vaginose bacteriana. Já na fase tardia (2-4 anos) pós-cirúrgica, a microbiota evoluiu para uma composição mais estável, semelhante à microbiota do fundo vaginal pré-cirúrgico, período que coincidiu com o desenvolvimento do epitélio escamoso na neovagina (CHEN *et al.*, 2024).

Com relação às análises da microbiota de neovaginas construídas com pele de tilápia, recente estudo de corte transversal descreveu achados da citologia oncótica convencional, citologia hormonal e coloração de Gram de amostras de conteúdo vaginal de 07 (sete) mulheres cisgênero com diagnóstico de SMRKH, submetidas à neovaginoplastia com este biomaterial. Também foram calculados os Escores de Nugent para a definição do tipo de microbiota vaginal. Nos resultados, foram encontradas células escamosas sem atipias em todas as pacientes do estudo. Cinco mulheres apresentaram microbiota vaginal intermediária (pontuação de Nugent de 4),

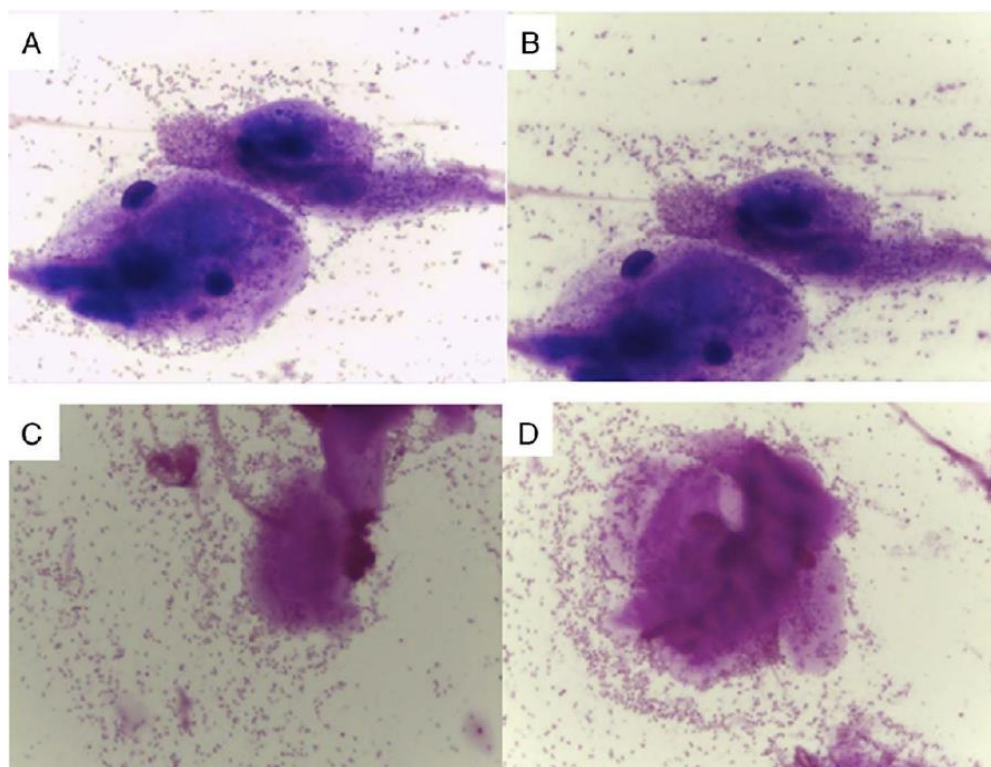
determinada pela presença de poucos lactobacilos na coloração de Gram, 02 (duas) pacientes apresentaram microbiota compatível com vaginose bacteriana (pontuação de Nugent de 8), havendo predominância de Gram-negativos e cocos gram positivos na bacterioscopia. Com relação à citologia hormonal, 04 (quatro) pacientes apresentaram resultados compatíveis com a fase reprodutiva da vida da mulher (menacme) (TEÓFILO *et al.*, 2023). As figuras 14 e 15 representam os achados de citologia e bacterioscopia.

Figura 14 - Células escamosas visualizadas em exames citológicos de neovagina com pele de tilápia do Nilo.



Fonte: Adaptado de TEÓFILO *et al.*, 2023.

Figura 15 - Bacterioscopia (coloração de Gram) de conteúdo vaginal de neovagina construída com pele de tilápia do Nilo.



Fonte: Adaptado de TEÓFILO *et al.*, 2023.

Ainda não há relatos na literatura de estudos que descrevam o microbioma vaginal de pacientes submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia com base em análises de sequenciamento do gene 16S rRNA.

1.11 JUSTIFICATIVA

Diante da ausência de estudos que descrevam o microbioma de neovaginas construídas com pele de tilápia e com enxerto de pele autóloga, bem como da necessidade de conhecimento sobre risco de infecção estabelecido por padrões microbianos, se justifica esse estudo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Descrever o microbioma vaginal de pacientes submetidas a neovaginoplastia com pele de tilápia liofilizada.

2.2 Objetivos específicos

a) Comparar os padrões de microbioma de neovagina determinados pelo estudo, com os microbiomas vaginais descritos pela literatura.

b) Comparar o microbioma de neovagina de pele de tilápia com o microbioma de neovagina feita com autoenxerto.

c) Estudar a possível determinação do microbioma de neovagina de pele de tilápia liofilizada e de autoenxerto pelo microbioma do trato gastrointestinal.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho, população-alvo e locais do estudo

3.1.1 Desenho do estudo

Estudo de corte transversal para análise do microbioma vaginal de pacientes submetidas à cirurgia de neovaginoplastia com pele de tilápia liofilizada ou com pele autóloga, atendidas em ambulatório especializado de ginecologia.

3.1.2 População-alvo e período do estudo

Pacientes submetidas à cirurgia de neovaginoplastia utilizando a técnica de McIndoe modificada com pele de tilápia liofilizada, processada e esterilizada, realizadas entre os anos de 2018 e 2023, ou com enxerto de pele autóloga, realizadas durante o período de 2009 a 2016.

A amostragem utilizada foi não probabilística por conveniência. As pacientes eram provenientes do Ceará e de outros Estados e estavam previamente agendadas para consultas de seguimento no Ambulatório de DDS da MEAC e, na ocasião do atendimento, foram convidadas a participar da pesquisa.

O estudo foi realizado no período de julho de 2022 a maio de 2023, durante às sextas feiras pela manhã, turno de funcionamento regular do referido ambulatório.

3.1.3 Locais do estudo

a) Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC)

O estudo foi realizado no ambulatório de ginecologia da Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC), especializado em Diferenças do Desenvolvimento Sexual (DDS), que faz parte do Serviço de Adolescentes. A MEAC é um hospital terciário, universitário, vinculado ao Sistema Único de Saúde (SUS), fazendo parte do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará (CH-UFC).

b) Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas imediatamente ao Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), onde foram conservadas em refrigerador a 80°C negativos. No NPDM foram produzidos os curativos biológicos de pele de tilápia liofilizada utilizados nas neovaginoplastias realizadas na MEAC.

c) Laboratório de Investigação Médica 49 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

A avaliação laboratorial foi realizada no Laboratório de Investigação Médica 49 (LIM 49) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFUSP). O LIM 49 se localiza no Instituto de Medicina Tropical, na Faculdade de Medicina da USP, sendo vinculado ao Hospital das Clínicas.

3.2 Dados Sociodemográficos e Clínicos

Durante a entrevista com as pacientes em consulta ambulatorial, foi preenchido pela pesquisadora um formulário (Apêndice A) eletrônico (*Google Docs*), constando informações sobre dados epidemiológicos, sociodemográficos e clínicos das participantes (Apêndice A), após esclarecimentos sobre o estudo e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice B).

3.3 Coleta do Material

Uma amostra do conteúdo vaginal foi colhida durante o exame ginecológico realizado no ambulatório de DDS da MEAC, em consulta ginecológica de rotina, com a paciente em posição de litotomia, através da realização de exame especular, sem utilização de lubrificante ou solução salina no espéculo para não comprometer a qualidade do material.

Foram coletadas 3 amostras de conteúdo vaginal, obtidas do fundo de saco vaginal e 3 amostras de fezes colhidas do canal anal, utilizando-se *swab* de haste plástica, sendo o material armazenado em tubo estéril sem meio de cultura (*swab* seco).

Após a coleta, os tubos foram conduzidos ao freezer de ultrabaixa temperatura (-80° C) localizado no NPDM para armazenamento.

3.4 Métodos laboratoriais

Após retirada do freezer e posterior alcance da temperatura ambiente, as amostras tiveram seu DNA extraído com o uso do kit Zymo BIOMICS™ DNA Miniprep (Zymo Research Corp., Irvine, CA, EUA).

Os tubos contendo DNA extraído foram novamente acondicionados em temperatura de -80° C até seu transporte.

As amostras foram enviadas, através de transporte aéreo, devidamente acondicionadas, para o Laboratório de Investigação Médica 49 (LIM-49) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), onde foram posteriormente sequenciadas.

Após a extração do DNA das amostras, a caracterização da microbiota foi realizada pela amplificação do domínio V4 do segmento 16S ribossômico bacteriano, utilizando os oligonucleotídeos iniciadores F515 (5'-CACGGTCGKCGGCGCCATT-3') e R806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3').

i. Amplificação de sequências-alvo

Para a amplificação de sequências– alvo, os reagentes (Primers, PlatinumR PCR SuperMix High Fidelity) e a amostra contendo DNA genômico de alta qualidade foram mantidos em gelo.

Cada par de iniciadores foi misturado em volumes iguais, obtendo uma solução estoque de 10 µM e os reagentes da tabela abaixo foram adicionados em um tubo de 0,2 mL na seguinte ordem: 1º 25 µL do PlatinumR PCR SuperMix High Fidelity, 2º 50 ng de DNA genômico, 3º 1 µL da solução estoque de primer a 10 µM, em um volume total de 50 µL.

Os tubos foram então colocados no termociclador com as seguintes condições de amplificação: ativação da Enzima 94°C por 3 minutos, desnaturação 94°C por 30 segundos, anelamento 58°C por 30 segundos, extensão 68 °C por 1 minutos/kb e 4°C.

ii. Purificação da biblioteca

Para o processo de purificação da biblioteca, o reagente Agencourt® AMPure® XP Reagent foi ressuspendido e mantida a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos, e adicionados 90 µL do reagente “Agencourt® AMPure® XP Reagent” a cada tubo contendo o amplicom (fragmento de DNA que é amplificado durante uma reação em cadeia da polimerase). Essa mistura foi incubada por 5 minutos à temperatura ambiente.

Após os 5 minutos de incubação, os tubos foram posicionados em uma estante magnética e incubados novamente por 2 minutos, ou até a solução se apresentar límpida. O sobrenadante foi cuidadosamente removido, sem que o sedimento fosse desprendido, e, a seguir, foram adicionados 30 µL de etanol 70% recém preparado, sendo essa mistura incubada por 30 segundos. Ao término da incubação, foi removido e desprezado o sobrenadante gerado, sem que o *pellet* fosse desprendido, e esse processo de lavagem com etanol a 70%, foi repetido por mais uma vez.

Após os processos de lavagem, foi certificada a remoção de todo o etanol dos poços e os tubos foram mantidos em uma estante magnética para que ocorresse a secagem das *beads* através da incubação à temperatura ambiente por 5 minutos. Os tubos foram removidos da estante magnética e adicionados 20 µL de tampão TE (tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM) a cada tubo e homogeneizados com o auxílio de uma pipeta por cinco vezes.

O tubo foi posicionado novamente em uma estante magnética durante 1 minuto e o sobrenadante contendo a biblioteca aplicada foi transferido para um novo tubo.

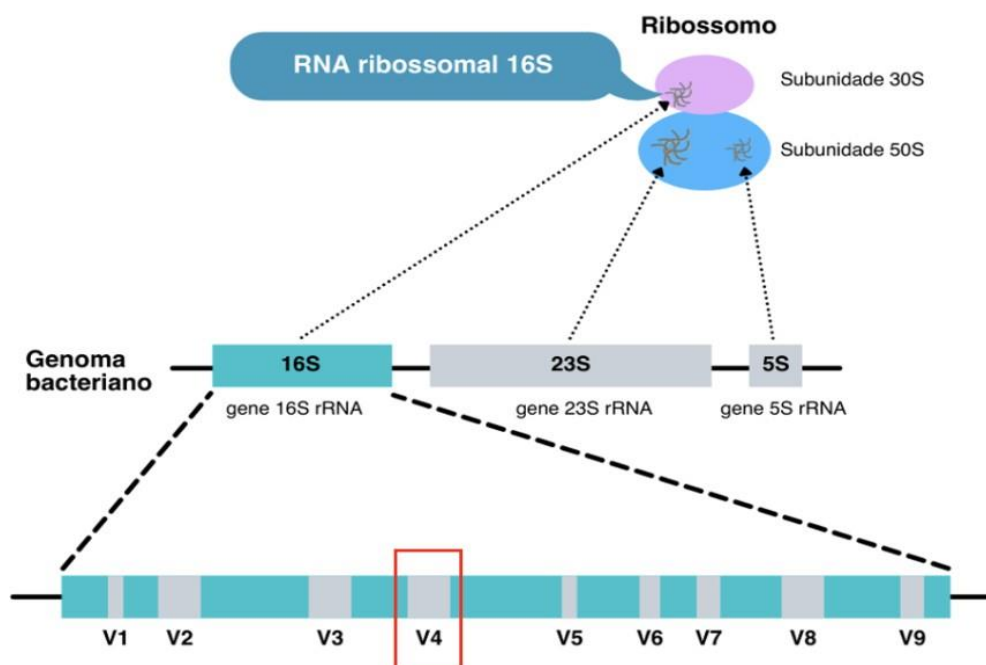
iii. Preparo do pool equimolar das bibliotecas amplificadas

O agrupamento das amostras em quantidades equimolares permite a total cobertura das regiões-alvo. Cada amostra foi quantificada no equipamento Qubit® através do kit Qubit® dsDNA HS Assay para determinar a concentração molar (nmol/L) de cada biblioteca. Todas as amostras foram diluídas para que se tornassem equimolares utilizando a maior concentração possível e, misturadas em um tubo contendo volumes iguais de cada amostra, para um volume total de no mínimo 25 µL.

iv. Técnica de Sequenciamento

concentração de DNA das amostras foi medida utilizando o fluorômetro Qubit (Thermo Scientific, Delaware, EUA). A caracterização da microbiota foi realizada por meio da amplificação do domínio V4 do gene ribossomal 16S bacteriano, utilizando os primers F515 (5'-CACGGTCGKCGGCGCCATT-3') e R806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), conforme ilustrado na Figura 16.

Figura 16 - Representação da região V4 (hipervariável) presente dentro do gene 16S RNA ribossomal.



As caixas azul e cinza indicam regiões conservadas e regiões hipervariáveis (V1-V9), respectivamente.
Fonte: Adaptado de FUKUDA *et al*, 2016.

As reações de PCR foram conduzidas com uma desnaturação inicial a 94 °C por 3 min, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 58 °C por 30 s, e extensão a 68 °C por 1 min (CAPORASO *et al.*, 2011). A eficiência da amplificação foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

Após a amplificação, as bibliotecas foram direcionadas ao aparelho Ion Chef System (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA) com o Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ Kit - Chef, conforme as instruções do fabricante. O sequenciamento foi executado no Ion GeneStudio™ S5 System utilizando o Chip 530, de acordo com os protocolos

fornecidos pela Thermo Fisher Scientific.

A análise bioinformática do microbioma foi realizada com o software Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME 2), versão 2024.2. Os dados de sequenciamento foram de multiplexados e desnoisados utilizando o pipeline DADA2.

Após o sequenciamento, as sequências obtidas são comparadas a bancos de dados com sequências de referência. Cada sequência é agrupada em Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) ou, mais recentemente, em Sequências Exatas ou Amplicon Sequence Variants (ASVs) - que são proxies (indicadores indiretos) para espécies ou grupos próximos. Essas OTUs ou ASVs são atribuídas a táxons em diferentes níveis hierárquicos: filo, classe, ordem, família, gênero e espécie. Assim, é possível descrever a composição bacteriana da amostra em termos de abundância relativa de cada táxon.

A análise da **alfa diversidade** dos dados de sequenciamento de amplicon é uma primeira abordagem comum para avaliar diferenças entre ambientes. Descreve a diversidade biológica presente em uma amostra específica, ou seja, quantifica a **variedade** e a **abundância relativa** das diferentes unidades taxonômicas (OTUs) dentro de uma única amostra (CASSOL, IBAÑEZ, BUSTAMANTE, 2025).

Essa medida de diversidade é um indicativo de como os organismos estão distribuídos dentro dessa amostra, levando em consideração tanto a **riqueza** (o número de diferentes espécies ou taxa) quanto a **uniformidade** (a distribuição equitativa desses organismos). A alfa diversidade pode ser medida por diferentes índices (CASSOL, IBAÑEZ, BUSTAMANTE, 2025), tais como:

a) **Observed (riqueza observada)**: é uma medida simples que quantifica o número total de espécies diferentes presentes em uma amostra ou comunidade.

b) **Índice de Shannon**: quantifica a incerteza associada à previsão da identidade da espécie de um indivíduo selecionado aleatoriamente de uma comunidade. Avalia tanto a riqueza quanto a equidade (uniformidade) das espécies.

c) **Índice de Simpson**: mede a probabilidade de duas unidades amostrais selecionadas aleatoriamente pertencerem à mesma espécie. Foca na dominância das espécies, com valores maiores indicando menor diversidade.

d) **Evenness**: estima a riqueza de espécies com base na abundância

observada de espécies raras. Mede o quão uniformemente as espécies são distribuídas em uma comunidade em termos de abundância relativa.

Em sequenciamento de amplicons, como no caso de sequenciamento de 16S rRNA para análise da microbiota, a alfa diversidade é útil para comparar a complexidade e a composição das comunidades microbianas em diferentes amostras ou condições experimentais. Quanto maior a alfa diversidade, maior a variedade e a complexidade biológica na amostra.

No presente estudo, uma árvore filogenética foi construída inserindo as sequências obtidas na árvore de referência Silva. Para a análise de diversidade alfa, foram calculadas as métricas Chao1, Simpson, número de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) observadas, uniformidade de Pielou, Shannon e diversidade filogenética de Faith.

A **beta diversidade**, por sua vez, refere-se à diversidade entre diferentes amostras ou grupos de amostras. No contexto de sequenciamento de amplicons, a beta diversidade avalia a variação na diversidade das espécies ou unidades taxonômicas (OTUs) entre diferentes amostras, condições experimentais ou grupos biológicos. Assim, a análise de diversidade beta quantifica a semelhança ou distância entre pares de microbiomas. Quanto maior a diferença na composição, maior a beta diversidade entre essas amostras (ANDERSON *et al.*, 2011).

Com base na análise da diversidade beta, podemos vincular o padrão geral de diversidade taxonômica ou funcional às características ambientais.

Em resumo, enquanto a alfa diversidade descreve a diversidade dentro de uma amostra, a beta diversidade compara a diversidade entre amostras, permitindo entender as diferenças nas comunidades biológicas em níveis mais amplos.

Para análise da diversidade beta são utilizados métodos de ordenação, técnicas estatísticas usadas para explorar e visualizar a estrutura de dados multivariados.

São métodos de ordenação comumente utilizados:

a) **PCoA (*Principal Coordinates Analysis*)**: também conhecida como Análise de Coordenadas Principais, é uma técnica usada para encontrar e visualizar padrões de similaridade ou dissimilaridade em dados multivariados.

b) NMDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*): é uma técnica de ordenação que visa representar a estrutura de similaridade dos dados em um espaço de menor dimensão, preservando as relações de distância original tanto quanto possível.

São métricas de distância comuns utilizadas para avaliação da beta diversidade:

a) **Distância de Bray-Curtis:** é uma métrica de dissimilaridade que quantifica a diferença entre duas comunidades baseando-se nas abundâncias relativas das espécies. Não utiliza informação filogenética.

b) **UniFrac ponderada:** é uma métrica de distância que leva em consideração tanto a presença/ausência quanto a abundância relativa das espécies, além da informação filogenética. Este método pondera as diferenças na abundância das espécies ao longo de uma árvore filogenética, fornecendo uma medida de quanto duas comunidades são diferentes em termos de composição e abundância das espécies.

c) **UniFrac não ponderada:** é uma métrica de distância que considera apenas a presença ou ausência de espécies e a informação filogenética, sem levar em conta a abundância relativa. Calcula a fração da árvore filogenética que é exclusiva para cada comunidade, ou seja, quantos ramos são únicos para uma das comunidades.

d) **Distância de Jaccard:** baseada na presença ou ausência de espécies em diferentes amostras. Não leva em conta a abundância das espécies, apenas sua presença ou ausência.

A diversidade beta no estudo foi avaliada utilizando as distâncias de Jaccard, Bray-Curtis, UniFrac ponderada e não ponderada. Com base nos dados de abundância gerados no QIIME 2, a análise subsequente foi realizada no software R, utilizando o pacote phyloseq (MCMURDIE; HOLMES, 2013). Esse pacote possibilita a integração de dados de abundância de OTUs/ASVs, dados taxonômicos, metadados das amostras e árvores filogenéticas. Para a visualização dos resultados, o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016) foi amplamente empregado, permitindo a geração de gráficos personalizáveis de alta qualidade.

Além disso, o pacote vegan (OKSANEN *et al.*, 2020) foi utilizado para realizar

cálculos ecológicos, especialmente para a análise da diversidade beta e para aplicar métricas de distância, como Bray-Curtis, Jaccard e UniFrac, assim como para a realização de métodos de ordenação, como a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) e o Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS).

3.5 Seleção da população controle

Para análise comparativa dos resultados do presente estudo com microbioma vaginal e fecal de mulheres com vagina normal, foi utilizada como população controle a amostra controle do estudo intitulado “*The Vaginal Microbiome as a Tool to Predict rASRM Stage of Disease in Endometriosis: a Pilot Study*” (PERROTTA *et al.*, 2019).

Trata-se de estudo piloto observacional transversal realizado na USP que caracterizou os perfis de microbioma vaginal e intestinal entre pacientes com endometriose e indivíduos controle sem a doença.

No estudo, os indivíduos do grupo controle incluíram 24 mulheres brasileiras, com média de idade de 35 anos, sem endometriose ou outras condições inflamatórias. Amostras fecais e vaginais foram coletadas de todas as pacientes (estudo e controle) durante duas fases diferentes do ciclo menstrual - período menstrual (dias 1-3 do ciclo) e fase folicular (dias 8-12 do ciclo).

O resultado dos dados de microbioma obtidos para este grupo controle, foram utilizados nas análises comparativas com microbioma vaginal e intestinal de mulheres com vagina construída com pele de tilápia ou enxerto de pele autóloga participantes da nossa pesquisa.

3.6 Aspectos Éticos

O projeto foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da MEAC, sendo aprovado sob o parecer nº 5.417.913 (Anexo A).

Foram recrutadas pacientes que concordaram em participar da investigação, após tomarem conhecimento da metodologia e dos objetivos e assinado termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice B).

O estudo seguiu as determinações da Resolução Nº 466/12 do Ministério da

Saúde (MS) que trata das pesquisas científicas envolvendo seres humanos.

Os riscos relacionados com a pesquisa foram o desconforto na coleta da amostra do conteúdo vaginal e de canal anal, sendo o incômodo semelhante ao observado durante o exame ginecológico de rotina.

O risco de perda de confidencialidade foi minimizado através de alocação do material obtido sob responsabilidade dos pesquisadores, em local protegido. As participantes não foram identificadas em momento algum.

Com relação aos benefícios, o estudo permitiu que fossem descritos os tipos mais comuns de bactérias que habitam a neovagina construída com pele de tilápia ou pele autóloga, possibilitando a investigação de algumas vulvovaginites, infecções sexualmente transmissíveis ou outras alterações, proporcionando o conhecimento, e a possibilidade de tratamento ou controle destas condições.

4. RESULTADOS

Foram avaliadas 23 pacientes atendidas no ambulatório especializado de Diferenças do Desenvolvimento Sexual (DDS), durante o período de julho de 2022 a maio de 2023, em seguimento de neovaginoplastia com pele de tilápia ou pele autóloga, realizadas entre os anos de 2009 a 2023.

4.1 Neovaginoplastia com pele autóloga

As mulheres com vagina construída com pele autóloga da região inguinal, tinham entre 21 e 34 anos (média de 26, 43 anos) de idade, procedentes do Ceará, sendo 04 do interior do Estado e uma de Fortaleza.

As pacientes foram submetidas à cirurgia entre os anos de 2009 e 2016, ou seja, a coleta das amostras foi realizada com mais de 5 anos do procedimento.

Neste grupo, todas as mulheres tinham diagnóstico de SMRKH. Quatro pacientes apresentavam SMRKH tipo I e apenas uma paciente (PcA4) foi identificada com SMRKH tipo II, com agenesia renal esquerda e rim direito ectópico.

O peso corporal médio das pacientes foi de 56,92Kg (50,6Kg a 61,8Kg) e a altura média de 154 cm (146 a 159 cm).

Todas as pacientes deste grupo apresentavam orientação heterossexual e tinham relato prévio de atividade sexual vaginal após a realização da cirurgia, sendo que 02 delas afirmavam prática de coito anal (PcA3 e PcA1).

Apenas uma paciente relatou atividade sexual há menos de 48 horas da realização da coleta (PcA3).

Três pacientes relataram uso de antibiótico nos últimos 90 dias antes da data da coleta, uma delas (PcA1) fez uso cefalexina via oral para tratamento de infecção de trato urinário, outra (PcA4) fez uso de metronidazol creme por via vaginal, para tratamento de corrimento genital e outra (PcA5) fez uso de metronidazol via oral e creme vaginal com associação de neomicina, fosfato dexametasona, nistatina, tirotricina, também para tratamento de corrimento vaginal de odor fétido.

O comprimento vaginal medido durante o exame ginecológico neste grupo de

pacientes foi em média 7,8 cm (variação de 6 a 9,5 cm).

Ao exame especular, duas pacientes (PcA3 e PcA5) apresentavam fâneros (pelos) em cúpula vaginal. As demais pacientes apresentavam conteúdo vaginal branco, escasso ou moderado, sem odor fétido.

As Tabelas 1 e 2 resumem os dados sociodemográficos e dados clínicos, respectivamente, das pacientes com reconstrução vaginal com enxerto de pele autóloga.

Tabela 1. Dados demográficos das pacientes com neovagina construída com enxerto de pele autóloga.

Identificação	Data da cirurgia	Idade (anos)	Estado civil	Naturalidade	Procedência	Escolaridade	Profissão	Raça (autodeclarada)	Orientação Sexual	Renda familiar (salários mínimos)
PcA1	24/07/13	34	Solteira	Parnaíba, PI	Granja, CE	Ensino fundamental	Comerciante	Branca	Heterossexual	1-5
PcA2	16/10/13	29	Casada	Pentecoste, CE	Caucaia, CE	Ensino médio	Ajudante de cozinha	Parda	Heterossexual	<1
PcA3	19/08/09	31	Casada	Horizonte, CE	Fortaleza, CE	Ensino médio	Dona de casa	Preta	Heterossexual	1-5
PcA4	19/08/15	30	Solteira	Fortaleza, CE	Fortaleza, CE	Ensino médio	Auxiliar de produção	Preta	Heterossexual	1-5
PcA5	11/07/16	21	Solteira	Mauriti, CE	Mauriti, CE	Ensino fundamental	Cuidadora e faxineira	Parda	Heterossexual	<1

Tabela 2. Dados clínicos das pacientes com neovagina construída com enxerto de pele autóloga.

Identificação	Diagnóstico	Cariótipo	Peso (Kg)	Alt (cm)	Vagina (cm)	ATB (<90 dias)	Medicações	Última atividade sexual	Uso molde	Uso lubrificante	Uso de creme vaginal	Conteúdo vaginal e achados no especular
PcA1	SMRKH Tipo I	Sim	59,9	155	8	Cefalexina oral	Não	>48 h	Sim	Sim	Não	Branco, leitoso, escasso
PcA2	SMRKH Tipo I	Não	54	146	6	Não	Não	>48 h	Não	Sim	Não	Branco, escasso
PcA3	SMRKH Tipo I	Sim	61,8	155	9,5	Não	Não	<48 h	Sim	Não	Não	Branco, leitoso, fâneros
PcA4	SMRKH Tipo II	Sim	50,6	159	7,5	Metronidazol vaginal	Não	>48 h	Sim	Não	Metronidazol	Branco, algo grumoso, escasso, *STV discreto
PcA5	SMRKH Tipo I	Não	58,3	156	8	Metronidazol oral	Não	>48 h	Não	Sim	*Trivagel-N®	Branco, escasso, fâneros

ATB= antibiótico; SMRKH= Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser; STV= sangramento transvaginal

* Creme vaginal com associação de neomicina, fosfato dexametasona, nistatina, tirotricina.

4.2 Neovaginoplastia com pele de Tilápia liofilizada

Foram avaliadas 18 pacientes submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia. Neste grupo de pacientes, as cirurgias foram realizadas entre os anos de 2018 e 2023.

As pacientes tinham entre 12 e 37 anos de idade (média de 24,61 anos), sendo 11 delas procedentes do Ceará, das quais 03 eram de Fortaleza e 08 do interior do Estado. Sete pacientes eram procedentes de outras Unidades da Federação.

A Tabela 3 apresenta os dados demográficos das pacientes submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia.

A maioria das mulheres (12 pacientes) tinham diagnóstico de Síndrome de Rokitansky, sendo 08 com SMRKH tipo I e quatro 04 SMRKH com tipo II.

Quatro (04) pacientes tinham outros diagnósticos de DDS, confirmadas por exame de cariótipo, conforme se segue:

- Três (03) pacientes com DDS 46, XY
 - PcT5 com Síndrome da Insensibilidade Androgênica Parcial (PAIS)
 - PcT16 com disgenesia gonadal com defeito na síntese de testosterona
 - PcT17 com Síndrome da Insensibilidade Androgênica Completa (CAIS)

- Uma (01) paciente com DDS ovotestis 46, XX (PcT3).

▪ Outra paciente (PcT2) com cariótipo 46, XX, tinha diagnóstico de Síndrome de Fraser- condição autossômica recessiva rara que se apresenta como um espectro de anomalias congênitas, incluindo criptoftalmia, sindactilia, genitália anormal, agenesia renal e anomalias musculoesqueléticas (BOUAOUD *et al.*, 2022). A paciente apresentava traços fenotípicos de útero bicornio, agenesia renal e palpebral esquerda, orelhas pequenas com baixa implantação, prognatismo e escoliose, além de septo vaginal transversal e espesso. Com quadro de dor pélvica por hematocolpo e hematométrio, foi submetida à septoplastia e à neovaginoplastia com pele de tilápia.

▪ A paciente PcT10 realizou cirurgia de reconstrução vaginal com pele de tilápia para correção de estenose vaginal secundária à braquiterapia por câncer de vagina.

O peso corporal médio das pacientes foi de 64,67Kg (39Kg a 96,5Kg) e a altura média de 157 cm (146 a 168 cm).

Tabela 3. Dados demográficos das pacientes com neovagina construída com de pele de tilápia liofilizada.

Identificação	Data da cirurgia	Idade (anos)	Estado civil	Naturalidade	Procedência	Escolaridade	Profissão	Raça (autodeclarada)	Orientação Sexual	Renda familiar (salários mínimos)
PCT1	26/09/2018	20	Solteira	Fortaleza, CE	Fortaleza, CE	Ensino médio	Desempregada	Parda	Heterossexual	1-5
PCT2	04/05/2022	12	Solteira	Jaguaribe, CE	Pereiro, CE	Ensino fundamental	Estudante	Branca	Heterossexual	1-5
PCT3	09/09/2020	22	Solteira	Bela Cruz, CE	Jijoca, CE	Ensino médio	Babá	Parda	Bissexual	Menor que 1
PCT4	09/02/2022	22	Solteira	Belém do São Francisco, PE	Belém do São Francisco, PE	Ensino superior	Farmacêutica	Parda	Heterossexual	1-5
PCT5	09/02/2022	28	Solteira	Boca do Acre, AM	Manaus, AM	Ensino médio	Confeiteira	Parda	Bissexual	1-5
PCT6	25/08/2021	20	Solteira	Fortaleza, CE	Chorozinho, CE	Ensino superior	Vereadora	Parda	Heterossexual	5-10
PCT7	26/03/2019	37	Solteira	Apuiarés, CE	Apuiarés, CE	Ensino médio	Agricultora	Branca	Heterossexual	Menor que 1
PCT8	29/06/2022	23	Solteira	Fortaleza, CE	Sobral, CE	Ensino médio	Estudante	Parda	Heterossexual	1-5
PCT9	06/07/2022	28	Solteira	Solonópole, CE	Deputado Irapuan Pinheiro, CE	Pós-graduação	Professora	Branca	Heterossexual	1-5
PCT10	04/10/2022	24	Solteira	Nova Olímpia, MT	Rio Verde, GO	Ensino médio	Atendente de panificadora	Parda	Heterossexual	1-5
PCT11	06/04/2022	21	Solteira	Simão Dias, SE	Aracaju, SE	Ensino médio	Técnica de enfermagem	Parda	Heterossexual	1-5
PCT12	25/08/2021	22	Solteira	Maceió, AL	Maceió, AL	Ensino médio	Autônoma	Branca	Heterossexual	1-5
PCT13	29/08/2018	27	Solteira	Mauriti, CE	Mauriti, CE	Ensino fundamental	Desempregada	Parda	Heterossexual	Menor que 1
PCT14	21/07/2017	26	Casada	Caucaia, CE	Pentecoste, CE	Ensino médio	Dona de casa	Parda	Heterossexual	1-5
PCT15	15/01/2020	28	Solteira	Picuí, PB	Picuí, PB	Pós-graduação	Arquiteta	Branca	Heterossexual	5-10
PCT16	09/11/2022	18	Solteira	Maracanaú, CE	Fortaleza, CE	Ensino médio	Desempregada	Branca	Bissexual	1-5
PCT17	07/12/2022	24	Solteira	Maceió, AL	Maceió, AL	Ensino superior	Advogada e pedagoga	Parda	Heterossexual	5-10
PCT18	29/02/2023	19	Solteira	Fortaleza, CE	Fortaleza, CE	Ensino médio	Autônoma	Branca	Heterossexual	1-5

Quinze pacientes deste grupo apresentavam orientação heterossexual e três com orientação bissexual, sendo que 10 mulheres tinham relato de atividade sexual vaginal após a realização da cirurgia e 08 das pacientes ainda não haviam iniciado atividade sexual vaginal. Seis das dezoito pacientes afirmavam prática de coito anal. Quatro pacientes relataram atividade sexual há menos de 48 horas da realização da coleta.

Seis pacientes fizeram uso de antibiótico oral nos últimos 90 dias antes da data da coleta, três delas utilizaram metronidazol: por via oral (PcT1), endovenoso (PcT2) e via vaginal (PcT10). A paciente PcT16 fez uso de cefadroxila oral, e outra paciente (PcT6) relatou uso de antibiótico oral por 14 dias, que não soube especificar, para tratamento de infecção do trato urinário (ITU). Uma mesma paciente fez uso de azitromicina oral e metronidazol vaginal (PcT9) nos 90 dias que antecederam a coleta de amostras.

O comprimento vaginal medido durante o exame ginecológico no grupo de pacientes com neovagina construída com pele de tilápia foi em média 7,67 cm (variação de 4 a 11 cm).

Ao exame ginecológico, 04 pacientes apresentavam pequenas lesões sugestivas de granuloma em cúpula vaginal, com conteúdo vaginal discreto e sanguinolento, as demais tinham conteúdo vaginal com características variáveis, desde branco e escasso, até amarelo-esverdeado, leitoso e com odor fétido.

A Tabela 4 apresenta os dados clínicos das pacientes submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia.

Tabela 4. Dados clínicos das pacientes com neovagina construída com de pele de tilápia liofilizada.

Identificação	Diagnóstico	Cariótipo	Peso(Kg)	Alt(cm)	Vagina(cm)	ATB (<90 dias)	Medicações	Última atividade sexual	Uso molde	Uso lubrificante	Uso de creme vaginal	Conteúdo vaginal e achados no especular
PCT1	SMRKH Tipo I	Não	89,3	164	11	Sim	Metformina	Sem atividade sexual	Sim	Sim	Não	Amarelo-esverdeado, leitoso, sem odor
PCT2	Síndrome de Fraser	Sim	39	148	6	Sim	Etinilestradiol+ Levonogestrel	Sem atividade sexual	Sim	Não	Não	Sanguinolento (mentruada?)
PCT3	DDS Ovotestis	Sim	62,7	155	7	Não	Não	Sem atividade sexual	Sim	Não	Metronidazol	Branco, algo leitoso, pouco volume
PCT4	SMRKH Tipo I	Sim	96,5	165	9	Não	Topiramato	>48 horas	Sim	Sim	Não	Amarelado, pouca monta, sem odor
PCT5	DDS XY (PAIS)	Sim	67	168	8	Não	Estradiol	>48 horas	Sim	Sim	Não	Citrino, pouca monta, algo fétido e sangrante, com granuloma
PCT6	SMRKH Tipo II	Sim	83	156	6	Sim	Não	>48 horas	Não	Não	Não	Branco, discreto, sem odor, com granuloma pequeno
PCT7	SMRKH Tipo II	Não	72,3	153	7	Não	Não	<48 horas	Não	Sim	Não	Escassa, branca
PCT8	SMRKH Tipo I	Sim	54,8	146	5	Não	Escitalopram	Sem atividade sexual	Sim	Sim	Não	Branco, algo fétido
PCT9	SMRKH Tipo I	Sim	71	155	7	Sim	Não	Sem atividade sexual	Sim	Não	Metronidazol	Amarelado, sanguinolento
PCT10	Ca/ Rt	Não	50,9	163	11	Sim	Não	>48 horas	Sim	Sim	Metronidazol	Algo amarelado, discreto, sem odor
PCT11	SMRKH Tipo II	Sim	74,5	163	4	Não	Não	>48 horas	Sim	Sim	Não	Algo sanguinolento, vagina curta, granuloma
PCT12	SMRKH Tipo I	Não	73,5	167,5	5,5	Não	Celetibe	>48 horas	Não	Sim	Não	Branco, discreto
PCT13	SMRKH Tipo I	Sim	84,1	156	6	Não	Não	<48 horas	Não	Não	Não	Branco, escasso
PCT14	SMRKH Tipo II	Sim	67,1	147	7	Não	Não	<48 horas	Não	Não	Não	Branco, mucoide, escasso
PCT15	SMRKH Tipo I	Não	62,8	162	8	Não	Cloridrato de paroxetina Bromazepam	>48 horas	Sim	Sim	Não	Branco, algo sanguinolento Com granuloma? pólipos?
PCT16	DDS XY (defeito na síntese de testosterona)	Sim	46	166	11	Sim	Sertralina Estradiol	Sem atividade sexual	Sim	Não	Não	Algo amarelo, discreto
PCT17	DDS XY (CAIS)	Sim	62,7	163	10	Não	Não	Sem atividade sexual	Sim	Sim	Não	Discretamente amarelado, pouca monta, sem odor
PCT18	SMRKH Tipo I	Sim	45,7	154	9	Não	Sulfato ferroso Fluoxetina	Sem atividade sexual	Sim	Não	Metronidazol	Algo sanguinolento

4.3 Seleção das Amostras

Foram coletadas 3 amostras de conteúdo vaginal e 3 amostras de material fecal de cada uma das 23 pacientes participantes do estudo, totalizando 138 amostras.

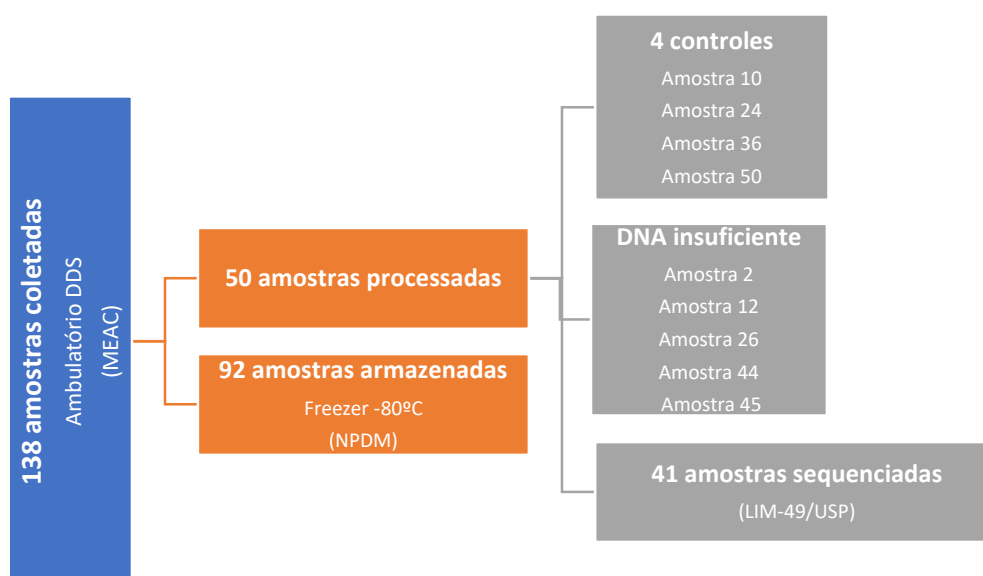
Do total de amostras, foram selecionadas para extração do DNA e posterior sequenciamento, uma amostra de conteúdo vaginal e uma amostra fecal de cada paciente, perfazendo um total de 46 amostras (23 vaginais e 23 fecais). As 92 amostras restantes, mantêm-se armazenadas no freezer de ultrabaixa temperatura localizado no NPDM/UFC.

A paciente PcA1 teve amostras vaginais e fecais insatisfatórias e foi retirada das análises. Foi colhida mais uma amostra vaginal e outra fecal da paciente PcT8 para compensação, 3 meses após a primeira coleta (seis meses após a cirurgia).

Para garantia da qualidade dos dados e validação dos resultados obtidos, foram utilizados 4 controles (amostras brancas).

Desta forma, foram processadas 50 amostras (46 coletadas e 4 controles). Cinco (05) das amostras coletadas apresentaram DNA baixo ou insuficiente, sendo excluídas das análises do microbioma. Assim, foram sequenciadas e analisadas no total 41 amostras de material vaginal e fecal das pacientes recrutadas para o estudo (Figura 17).

Figura 17. Representação da seleção das amostras processadas e sequenciadas.



O quadro 2 relaciona as pacientes com as amostras coletadas neovaginais e fecais bem como com o tipo de enxerto utilizado.

Quadro 2 - Correlação entre identificação das pacientes e amostras enviadas para processamento e análise.

IDENTIFICAÇÃO	ENXERTO UTILIZADO	AMOSTRA VAGINAL	AMOSTRA FECAL
PcA1	Pele	Sem amostra avaliada	Sem amostra avaliada
PcA2	Pele	Amostra 47	Amostra 48
PcA3	Pele	Amostra 1	Amostra 2 (sem DNA)
PcA4	Pele	Amostra 9	Amostra 23
PcA5	Pele	Amostra 45 (sem DNA)	Amostra 46
PcT1	Tilápia	Amostra 25	Amostra 26 (sem DNA)
PcT2	Tilápia	Amostra 29	Amostra 30
PcT3	Tilápia	Amostra 33	Amostra 34
PcT4	Tilápia	Amostra 35	Amostra 49
PcT5	Tilápia	Amostra 37	Amostra 38
PcT6	Tilápia	Amostra 39	Amostra 40
PcT7	Tilápia	Amostra 41	Amostra 42
PcT8	Tilápia	Amostra 43	Amostra 44 (sem DNA)
PcT8*	Tilápia	Amostra 31	Amostra 32
PcT9	Tilápia	Amostra 3	Amostra 4
PcT10	Tilápia	Amostra 5	Amostra 6
PcT11	Tilápia	Amostra 7	Amostra 8
PcT12	Tilápia	Amostra17	Amostra 22
PcT13	Tilápia	Amostra 15	Amostra 16
PcT14	Tilápia	Amostra19	Amostra 20
PcT15	Tilápia	Amostra 11	Amostra12 (sem DNA)
PcT16	Tilápia	Amostra 13	Amostra 14
PcT17	Tilápia	Amostra 21	Amostra 22
PcT18	Tilápia	Amostra 27	Amostra 28

* Segunda amostra vaginal e fecal da paciente PcT8.

4.4 Comunidades Microbianas

A análise da distribuição taxonômica das amostras de microbioma foi realizada a partir de gráficos do tipo *bar plot*, representando a **abundância relativa** das bactérias em diferentes níveis taxonômicos (filó e gênero). Os resultados são apresentados mais detalhadamente a seguir.

4.4.1 Distribuição em Nível de Filo

Foram identificadas bactérias dos filos Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Fusobacteriota e Proteobacteria. Outros filos foram identificados e juntos somam menos de 1% em abundância das amostras sequenciadas.

4.4.1.1 Amostras Neovaginais

Nas amostras de conteúdo vaginal de neovaginas construídas com pele de tilápia, observou-se **predomínio do filo Firmicutes**, seguido por Actinobacteriota, Bacteroidota, Fusobacteriota e Proteobacteria.

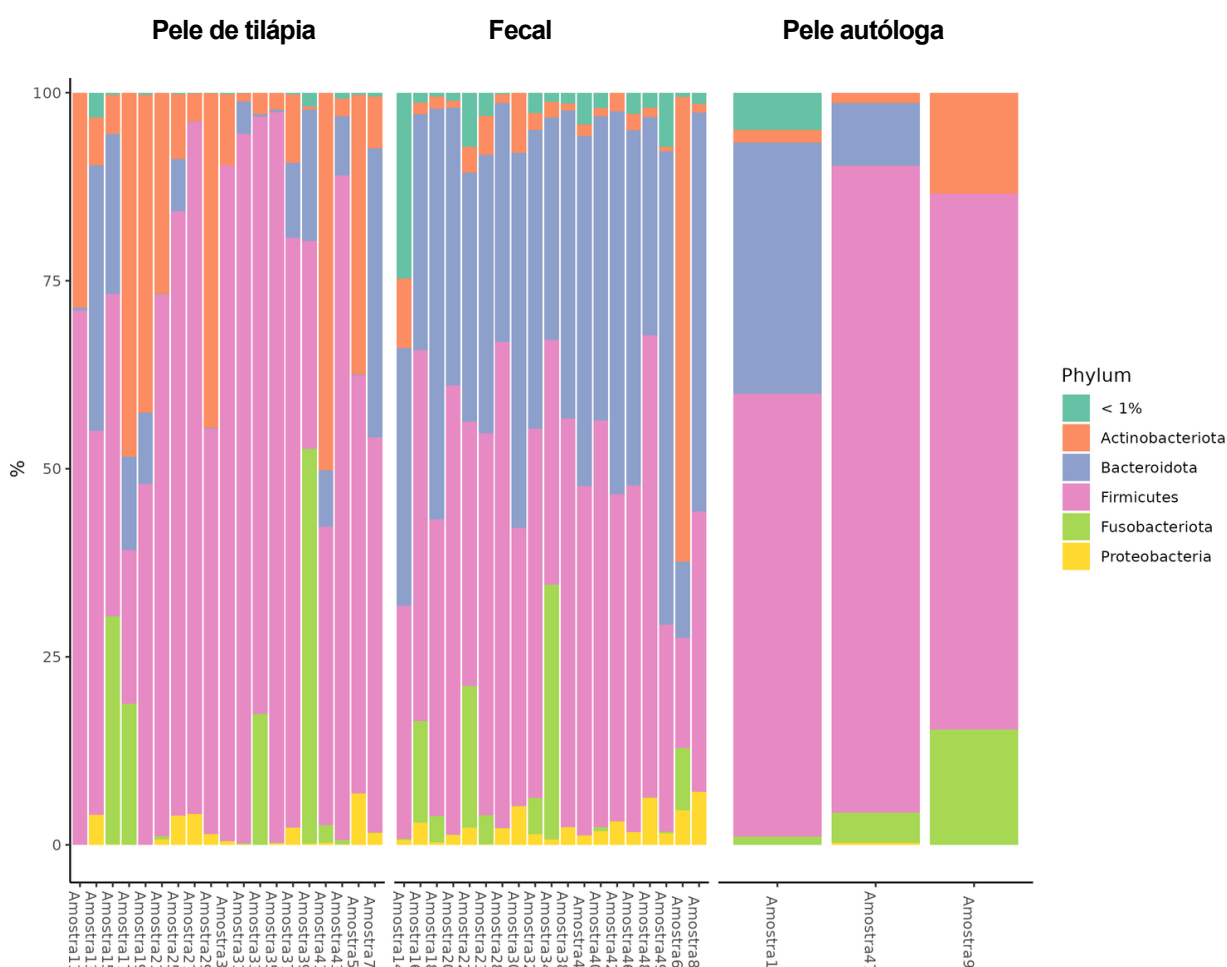
Nas três amostras de neovagina com enxerto de pele autóloga, também foi identificado **predomínio de Firmicutes**, com menor abundância de Fusobacteriota e Actinobacteriota. Em uma dessas amostras (amostra 9), **não foram detectados** representantes dos filos Bacteroidota nem Proteobacteria em sua composição.

4.4.1.2 Amostras Fecais

As amostras fecais apresentaram **predomínio dos filos Firmicutes e Bacteroidota**, seguidos por Fusobacteriota e, em menor abundância, Proteobacteria e Actinobacteriota.

O gráfico 1 representa a distribuição dos filos presentes nas amostras, fornecendo uma visão geral da composição taxonômica.

Gráfico 1 - Bar plot da relativa abundância em nível de filo das amostras de neovagina com pele de tilápia, pele autóloga e material fecal.



4.4.2 Distribuição em Nível de Gênero

4.4.2.1 Amostras Neovaginais

Nas neovaginas com pele de tilápia, os gêneros mais frequentes foram ***Lactobacillus***, ***Prevotella*** e ***Streptococcus***. Em menor abundância, foram encontrados ***Finegoldia***, ***Faecalibacterium*** e ***Bacteroides***.

Nas amostras com enxerto de pele autóloga, ***Lactobacillus*** esteve presente em todas as amostras, sendo acompanhado ocasionalmente por ***Streptococcus***.

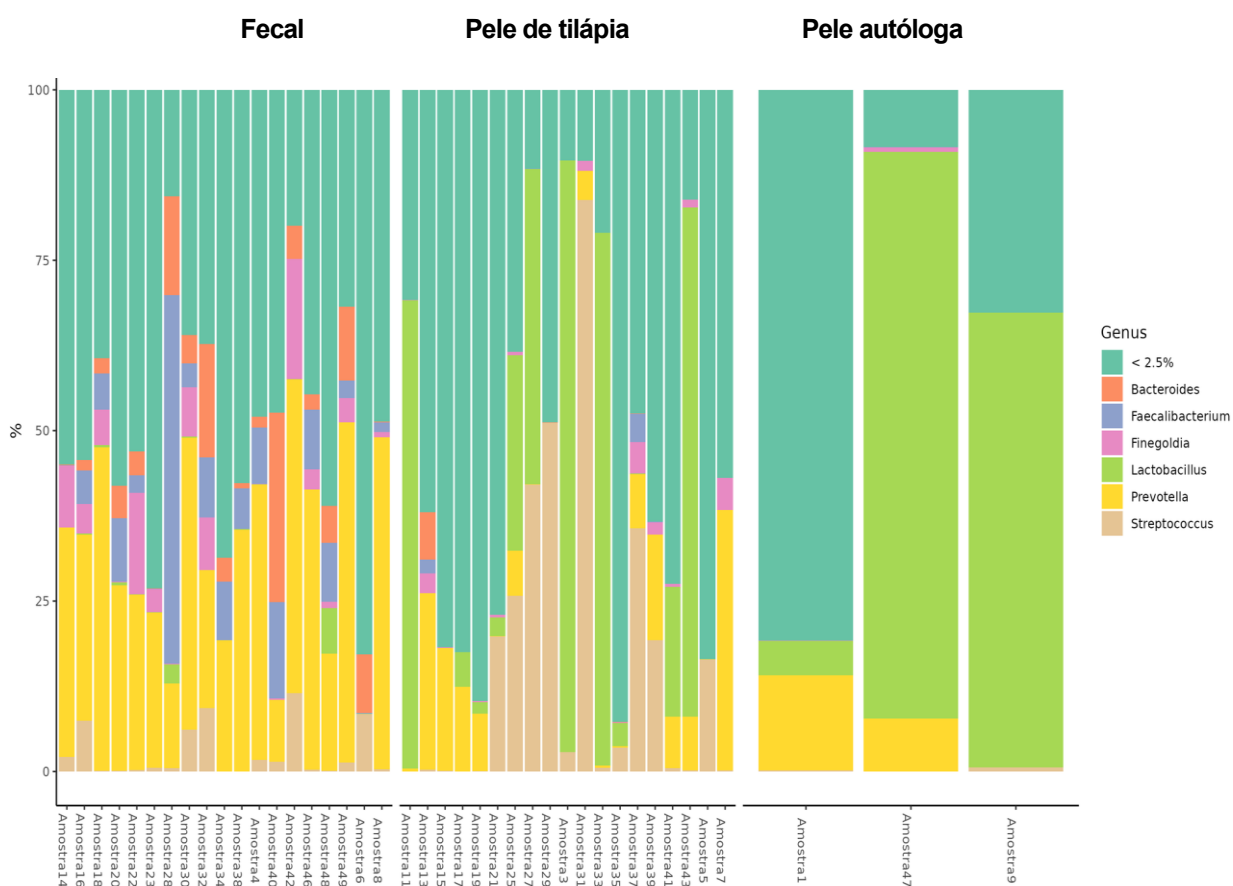
4.4.2.2 Amostras Fecais

As amostras de material fecal foram compostas principalmente por bactérias

dos gêneros ***Prevotella***, ***Faecalibacterium***, ***Bacteroides***, ***Finegoldia*** e ***Streptococcus***. Além disso, gêneros minoritários (com menos de 2,5% de abundância individual) foram observados em todas as amostras. Em **duas** delas (amostras 28 e 48), o gênero ***Lactobacillus*** também foi identificado.

O gráfico 2 destaca a distribuição em nível de gênero, proporcionando uma visão mais detalhada da composição do microbioma neovaginal e fecal.

Gráfico 2 -Bar plot da relativa abundância em nível de gênero das amostras de neovagina com pele de tilápia, pele autóloga e material fecal.



4.4.2.3 Comparação entre Pele de Tilápia e Pele Autóloga

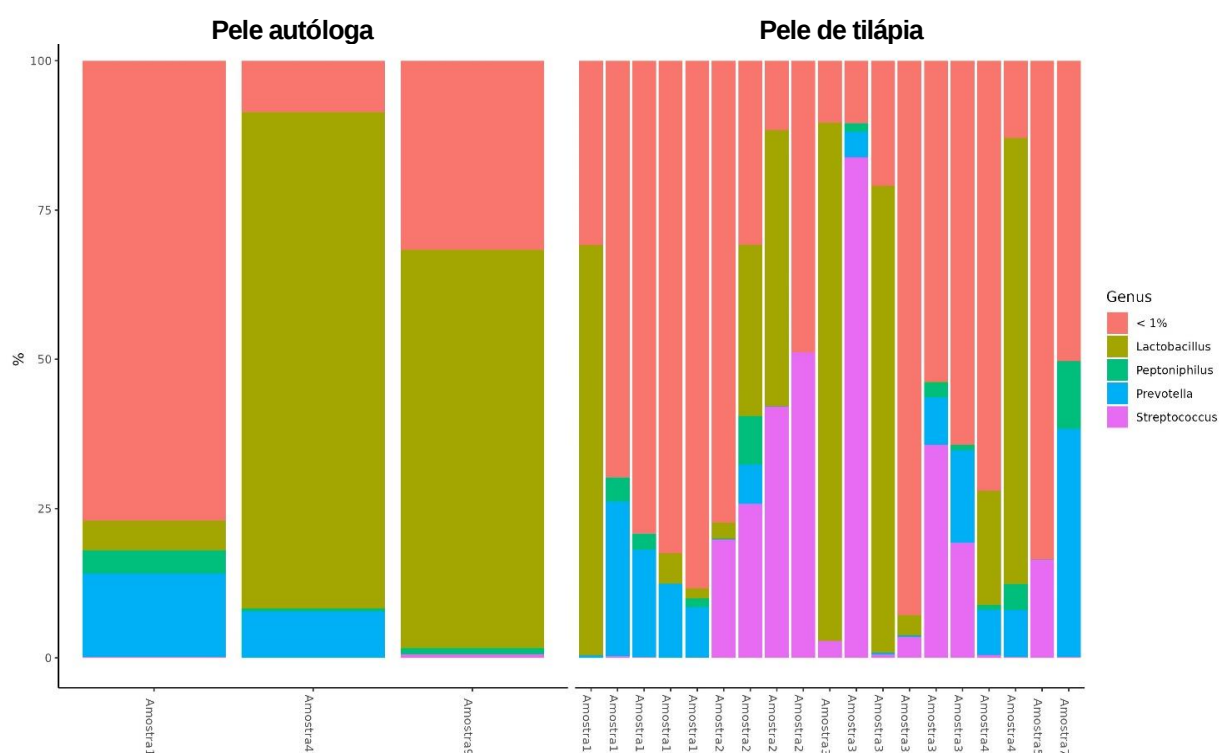
Comparando os perfis de neovaginas com diferentes materiais de reconstrução, observou-se presença do gênero ***Lactobacillus*** em todas as amostras de pele autóloga e em 11 das 19 amostras de pele de tilápia.

O gênero ***Streptococcus*** foi identificado em mais de 50% das amostras de

neovaginas com pele de tilápia, mas foi raramente detectado nas neovaginas com pele autóloga.

O gráfico 3 apresenta a abundância relativa das bactérias isoladas por gênero em amostras de conteúdo de neovagina com pele autóloga e de pele de tilápia, possibilitando melhor análise comparativa entre os grupos.

Gráfico 3 - Bar plot da relativa abundância em nível de gênero das amostras de neovagina com pele de tilápia e neovagina com enxerto de pele autóloga.



4.4.3 Comparação com o Grupo Controle

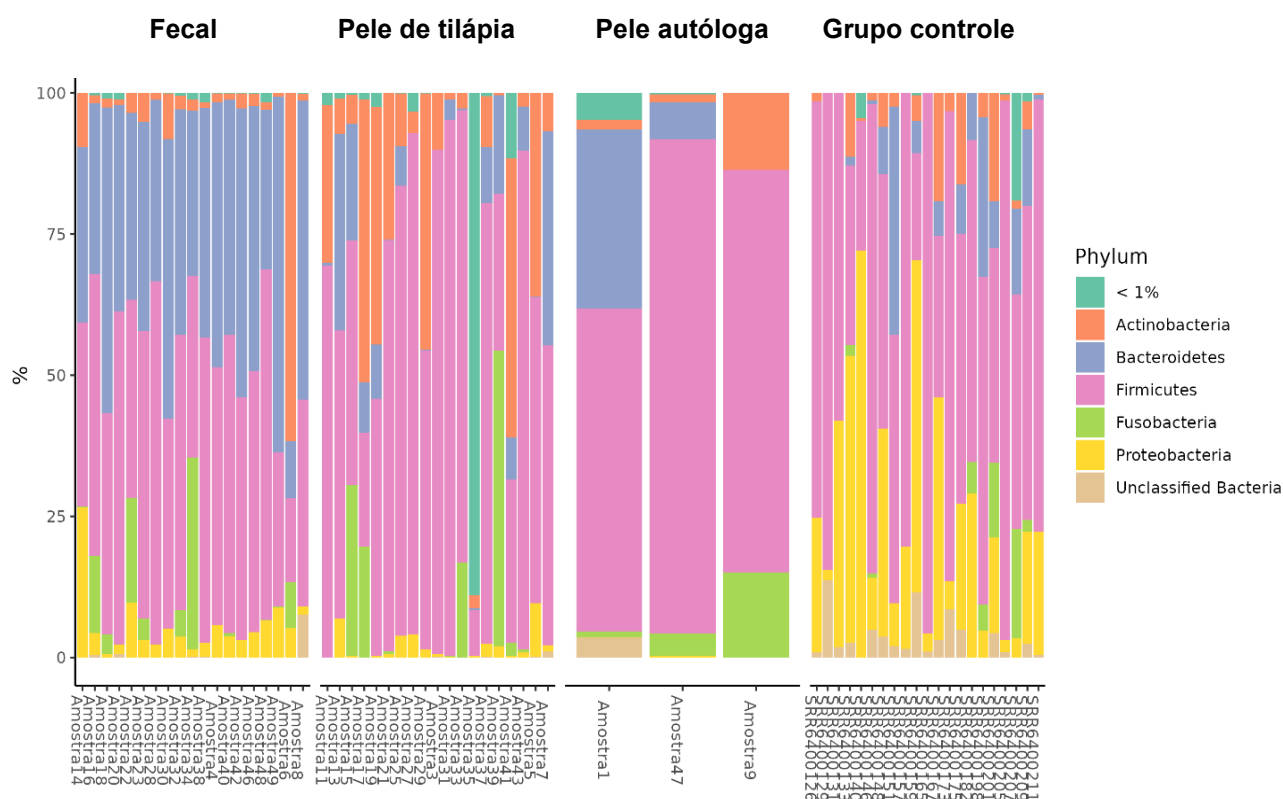
Para comparação das amostras do microbioma de neovagina com pele de tilápia e autóloga de pacientes do estudo com as amostras de pacientes do grupo controle utilizado, foram gerados os gráficos *Bar plot* representados pelos gráficos 4 a 6.

No grupo controle (vaginas sem agenesia), observou-se predominância dos filos **Firmicutes e Proteobacteria**, além da presença, em menor proporção, de Bacteroidota, Actinobacteriota e Fusobacteriota. Pequena porcentagem de táxons não

classificados foi registrada em várias amostras.

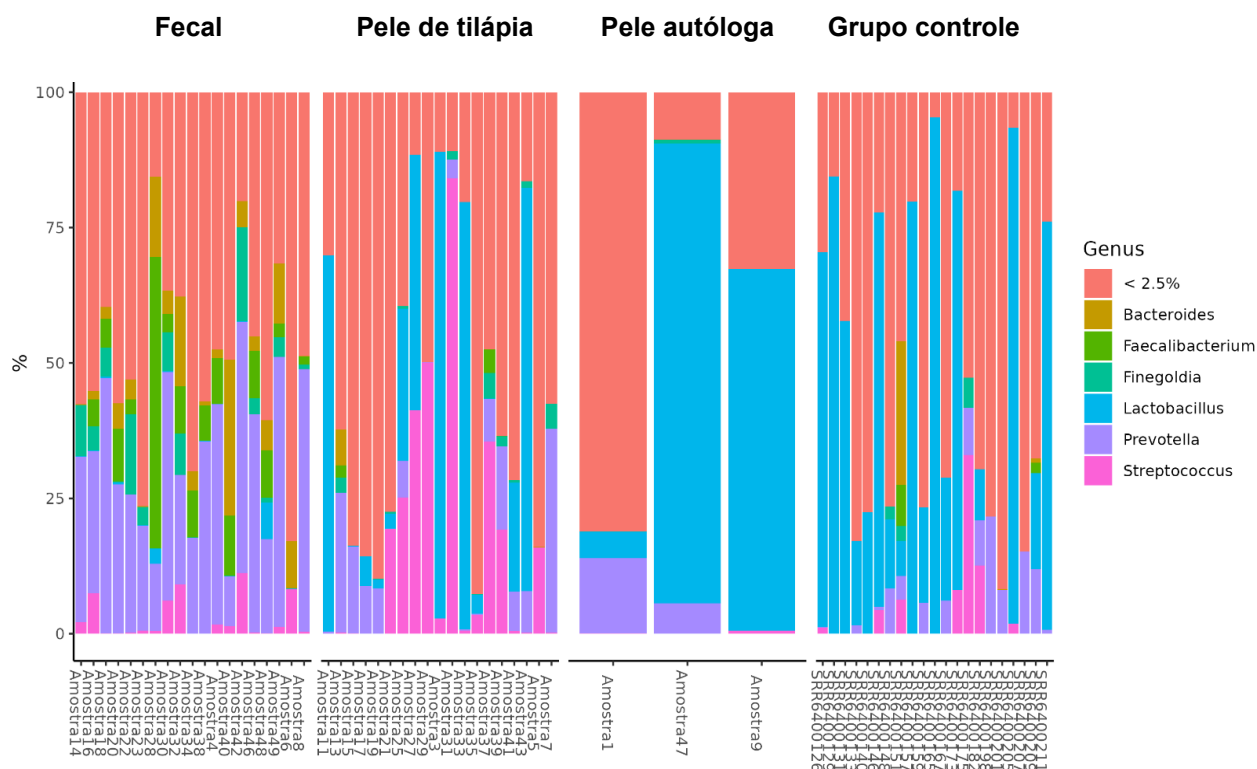
O gráfico 4 representa a abundância relativa dos táxons em **nível de filo** nas amostras do microbioma de neovagina com pele de tilápia, pele autóloga e amostras fecais de pacientes do estudo com as amostras de pacientes do grupo controle utilizado.

Gráfico 4 - *Bar plot* da relativa abundância em nível de filo das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia, neovagina com enxerto de pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.



Com relação aos **gêneros** bacterianos, o grupo controle apresentou com um perfil tipicamente dominado por ***Lactobacillus***. O gráfico 5 representa a distribuição da abundância relativa de gêneros encontrados após análise do microbioma vaginal das mulheres do grupo controle, microbioma de neovaginas com pele de tilápia e enxerto de pele autóloga, e de material fecal das pacientes do estudo.

Gráfico 5 - Bar plot da relativa abundância em nível de gênero das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia, neovagina com enxerto de pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.

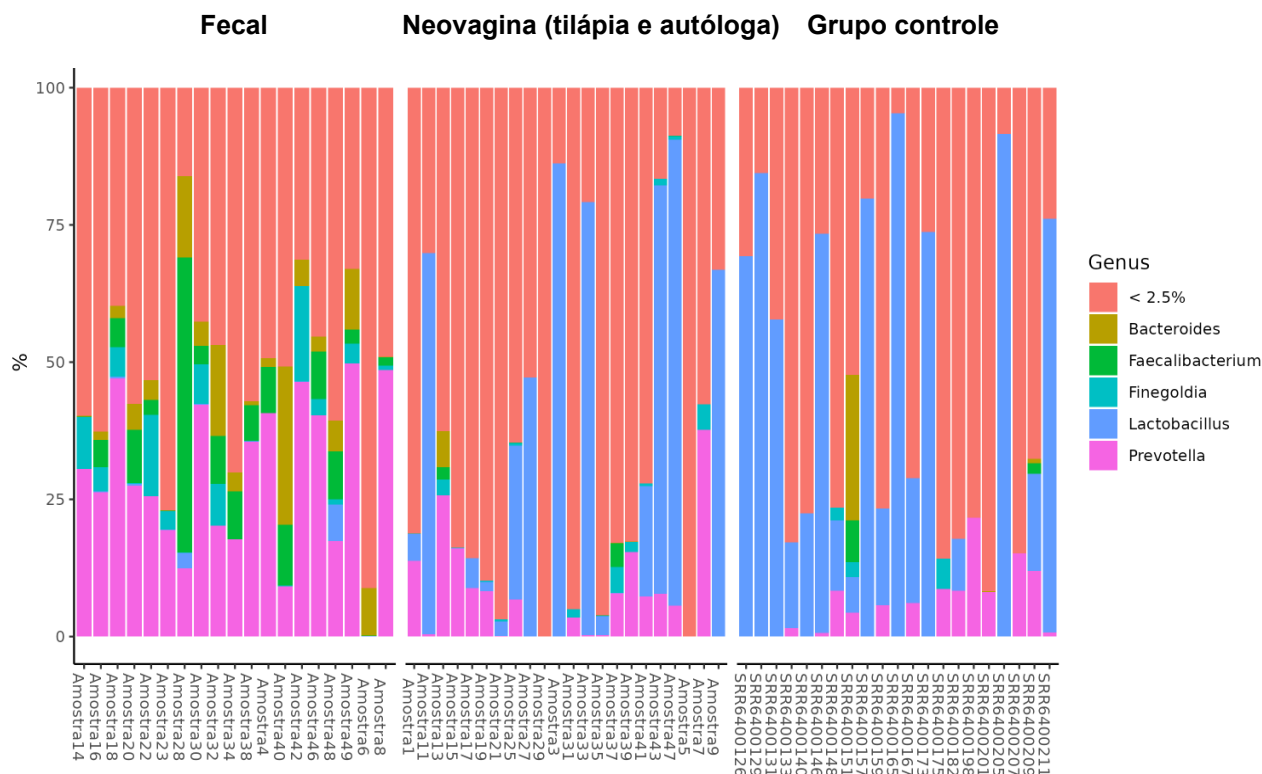


Comparando os perfis dos traçados do gráfico, observa-se semelhança entre o padrão neovaginal e de vagina de pacientes controle, na medida em que se observa a presença de *Lactobacillus* na maioria das amostras de neovagina com pele de tilápia (em 11 de 19 amostras) e em todas as neovaginas construídas com pele da própria paciente.

O padrão do gráfico das amostras fecais, com predomínio de *Prevotella*, seguido por *Faecalibacterium* e *Bacteroides*, apresenta-se divergente em relação ao grupo controle.

O gráfico 6 representa os achados anteriores, porém reunindo em um mesmo grupo as amostras neovaginais, possibilitando uma visão mais geral da abundância relativa dos táxons em nível de gênero nos três grupos (amostras fecais, neovaginais e grupo controle).

Gráfico 6. Bar plot da relativa abundância em nível de gênero das amostras de material fecal, neovagina com pele de tilápia e pele autóloga e vagina de pacientes do grupo controle.



4.4.4 Gêneros com Diferenças Estatisticamente Significativas

Alguns gêneros bacterianos clinicamente relevantes apresentaram **diferenças estatisticamente significativas** de abundância relativa entre os grupos estudados (neovagina com pele de tilápia, pele autóloga, grupo controle e amostras fecais). Os gêneros com diferenças marcantes incluem: *Dialister*, *Gardnerella*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Neisseria*, *Streptococcus* e *Veillonellaceae*.

A análise estatística da abundância relativa dos principais gêneros bacterianos clinicamente relevantes foi realizada por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn com correção de Bonferroni para comparações múltiplas. Observou-se diferença estatisticamente significativa para os gêneros *Lactobacillus* ($p < 0,001$), *Streptococcus* ($p = 0,0196$), *Neisseria* ($p = 0,0285$), *Mobiluncus* ($p = 0,0447$), *Veillonellaceae* ($p = 0,0447$), *Dialister* ($p = 0,0453$) e *Gardnerella* ($p = 0,0336$). O gênero *Mycoplasma* apresentou tendência à significância ($p = 0,0956$). Após a correção de Bonferroni, foi identificada diferença significativa na abundância relativa

de *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Neisseria* e *Mobiluncus* entre o grupo de neovagina com pele de tilápia e o grupo controle vaginal. O gênero *Veillonellaceae* apresentou diferença significativa entre os grupos com pele autóloga e pele de tilápia (gráfico 7).

Gráfico 7- Abundância relativa de gêneros bacterianos clinicamente relevantes com diferenças significativas entre os tipos de amostra.

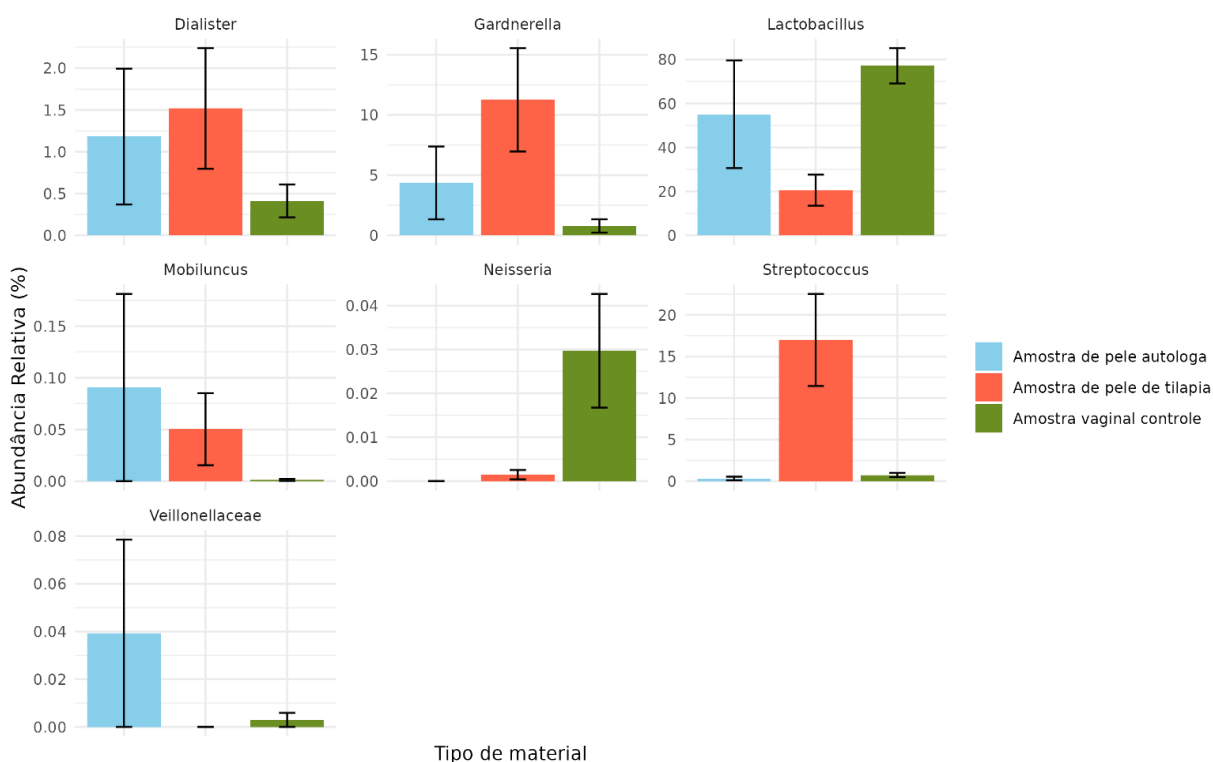


Gráfico de barras mostrando a abundância relativa (%) dos gêneros *Dialister*, *Gardnerella*, *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Neisseria*, *Streptococcus* e *Veillonellaceae* nas diferentes amostras. Apenas os táxons com diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram incluídos (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Outros gêneros analisados, como *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, *Ureaplasma* e *Proteobacteria*, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

A tabela 5 representa a abundância relativa nas amostras de neovaginas de pele de tilápia e de enxerto de pele autóloga de bactérias de gêneros e espécies que são usualmente encontradas na microbiota vaginal típica e que foram identificadas no estudo, incluindo algumas espécies de *Lactobacilli*, fazendo ainda uma associação dos achados com a classificação das amostras neovaginais em CSTs.

Tabela 5. Relativa abundância dos principais gêneros identificados nas amostras neovaginais (tilápia e autóloga) e espécies de *Lactobacillus*.

Abundância Relativa	Grupo	<i>Lactobacillus</i> *	<i>L. iners</i>	<i>L. jensenii</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Gardnerella</i>	<i>Megasphaera</i>	<i>Sneathia</i>	<i>Dialister</i>	CST	Raça (autodeclarada)
Amostra1	Autóloga	5.2	10.1	0.0	0.00	0.2	14.5	1.0	0.4	0.1	4.1	III	Preta
Amostra47	Autóloga	83.2	82.3	6.8	0.00	0.0	7.7	0.9	0.0	0.0	0.2	III	Parda
Amostra9	Autóloga	66.7	93.6	1.0	0.00	0.6	0.0	12.7	0.0	15.3	0.7	III	Preta
Amostra11	Tilápia	68.7	74.3	9.7	0.00	0.0	0.4	26.9	0.0	0.0	0.0	III	Branca
Amostra17	Tilápia	5.1	10.2	0.0	0.00	0.0	12.4	43.7	13.3	18.7	0.2	III	Branca
Amostra33	Tilápia	78.2	97.2	0.3	0.00	0.6	0.3	2.9	0.0	17.4	0.0	III	Parda
Amostra41	Tilápia	19.1	42.0	0.0	0.00	0.5	7.5	47.3	0.0	2.4	0.9	III	Branca
Amostra13	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	0.3	26.1	0.5	0.0	0.0	2.8	IV	Branca
Amostra15	Tilápia	0.0	0.1	0.0	0.00	0.1	18.0	3.5	0.3	27.7	25.6	IV	Parda
Amostra19	Tilápia	1.7	0.0	0.0	0.13	0.1	8.4	38.4	34.0	0.0	2.3	IV	Parda
Amostra21	Tilápia	2.7	0.0	0.0	0.20	19.9	0.1	26.8	0.0	0.0	0.4	IV	Parda
Amostra7	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	0.2	38.4	0.0	0.0	0.0	3.7	IV	Parda
Amostra43	Tilápia	74.7	0.0	0.0	0.00	0.1	7.9	0.0	0.0	0.0	0.2	<i>Lactobacillus</i> ** e <i>Prevotella</i>	Parda
Amostra25	Tilápia	28.7	0.0	0.0	0.00	25.8	6.6	0.0	0.0	0.0	1.9	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Parda
Amostra29	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	51.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Branca
Amostra31	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	83.9	4.3	0.0	0.0	0.0	0.6	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Parda
Amostra37	Tilápia	0.1	0.1	0.0	0.00	36.1	8.0	0.0	0.0	0.0	1.0	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Parda
Amostra39	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	19.3	15.5	0.0	0.0	0.0	1.0	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Parda
Amostra5	Tilápia	0.0	0.0	0.0	0.00	16.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	<i>Streptococcus</i> / IV (?)	Parda
Amostra35	Tilápia	3.4	3.6	0.0	0.00	3.5	0.2	2.1	0.0	0.0	0.0	<i>Ureaplasma</i>	Parda
Amostra27	Tilápia	46.3	0.0	97.6	0.00	42.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	V	Branca
Amostra3	Tilápia	86.9	0.0	61.7	0.00	2.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	V	Branca

CST= Community State Types; * Abundância relativa do total de *Lactobacillus* na amostra; ** *Lactobacillus* de espécies não classificadas

4.4.5. Identificação das espécies de *Lactobacilli* nas amostras

Em relação às espécies de *Lactobacilli*, foram encontrados *L. inners*, *L. gasseri* e *L. jensenii* nas amostras de pele de tilápia e autóloga e realizada análise comparativa com o grupo controle e amostras fecais, conforme representado no gráfico 8.

Gráfico 8 - Abundância relativa de espécies do gênero *Lactobacillus* com diferenças significativas entre os tipos de amostra.

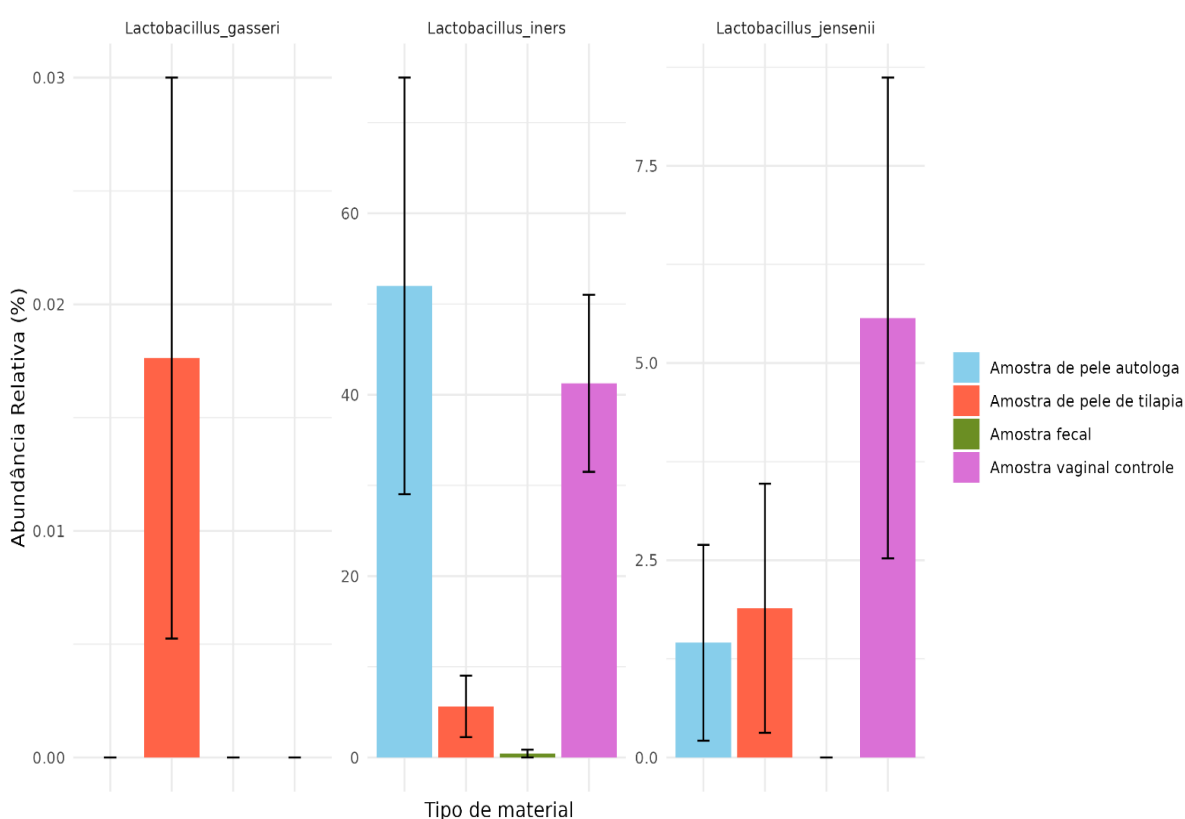


Gráfico de barras representando a abundância relativa (%) das espécies *Lactobacillus gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii* nas amostras de pele autóloga, pele de tilápia, fezes e controle vaginal. Foram incluídas apenas as espécies que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). As barras de erro indicam o desvio padrão.

Observa-se que *L. iners* apresentou maior abundância nas amostras de pele autóloga (média aproximada de 50%) e na amostra vaginal controle (cerca de 42%), enquanto sua presença foi substancialmente reduzida nas amostras de pele de tilápia. As diferenças observadas foram estatisticamente significativas, conforme previamente demonstrado, com destaque para a maior abundância nas amostras com pele autóloga e vaginais controle em relação às fecais e àquelas com pele de tilápia.

Para *L. jensenii*, foi identificada uma distribuição intermediária, com maior abundância na amostra vaginal controle (em torno de 5,5%), seguida por valores mais baixos nas demais amostras. A amostra fecal apresentou praticamente ausência dessa espécie, com diferença estatisticamente significativa quando comparada às amostras neovaginais e de controle vaginais.

No caso de *L. gasseri*, embora incluído no gráfico para fins de comparação visual, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (teste de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$), o que indica uma distribuição mais homogênea ou com baixa expressão relativa nas amostras analisadas. A abundância foi discretamente maior nas amostras de pele de tilápia, mas com elevada variabilidade, conforme ilustrado pelas barras de erro.

A abundância relativa das três espécies de *Lactobacillus* avaliadas aproximou-se de zero nas amostras fecais. Não foram identificados *L. crispatus* nas amostras neovaginais.

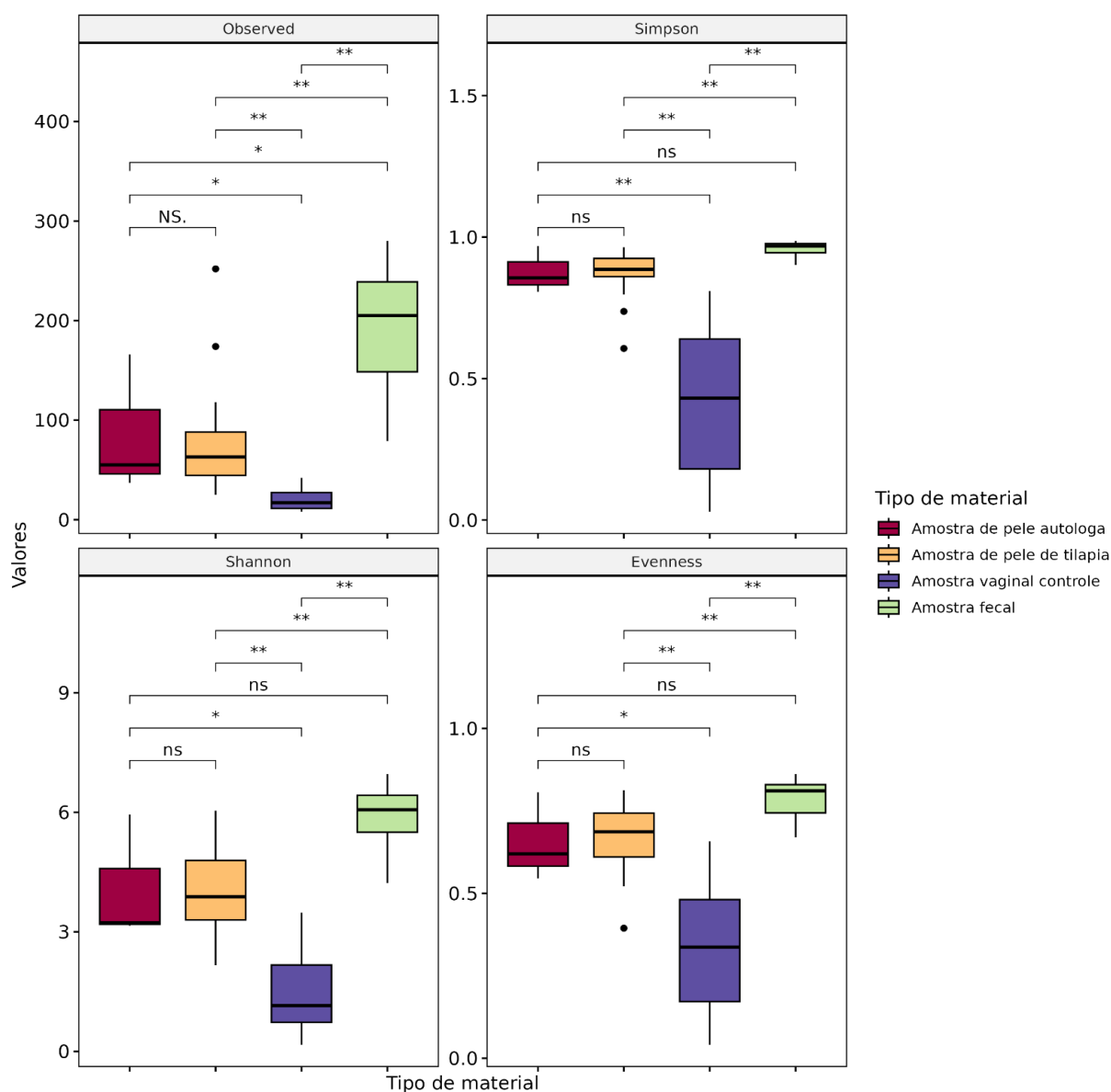
4.5 Achados de alfa diversidade

Com relação aos achados de alfa diversidade (que representa a diversidade biológica presente em uma amostra específica), foram analisadas as amostras de neovagina com pele de tilápia liofilizada, neovagina com pele autóloga, amostras fecais e amostras vaginais do grupo controle e comparadas entre si.

De modo geral, observaram-se diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, com destaque para os extremos representados pelas amostras **vaginais controle** (menor diversidade) e **fecais** (maior diversidade).

O gráfico 9 apresenta a comparação da diversidade alfa microbiana entre os grupos amostrais por meio dos índices Observed, Simpson, Shannon e Evenness do presente estudo.

Gráfico 9 - Comparação da diversidade alfa entre os diferentes tipos de amostra.



Índices de diversidade Observed, Simpson, Shannon e Evenness para as amostras de pele autóloga, pele de tilápia, fecal e controle vaginal. Os valores de p foram representados por: NS = > 1, 0.001 = **, 0.05 = *.

No índice **Observed**, que representa o número de espécies detectadas (riqueza), as amostras fecais apresentaram valores significativamente mais altos em comparação com todos os demais grupos ($p < 0,01$), refletindo maior diversidade taxonômica. As amostras de pele autóloga exibiram riqueza intermediária, significativamente maior do que as amostras vaginais controle ($p < 0,05$), mas não significativamente diferente das de pele de tilápia (NS).

O índice **Simpson**, que leva em conta a dominância de poucas espécies,

mostrou valores mais baixos nas amostras vaginais controle, indicando dominância de poucos táxons - um padrão típico da microbiota vaginal saudável dominada por *Lactobacillus*. Em contrapartida, as amostras fecais apresentaram maior uniformidade na distribuição dos táxons, com valores significativamente mais altos em relação a todos os demais grupos ($p < 0,01$). A pele autóloga teve desempenho intermediário, próxima da pele de tilápia, sem diferença estatística entre ambas.

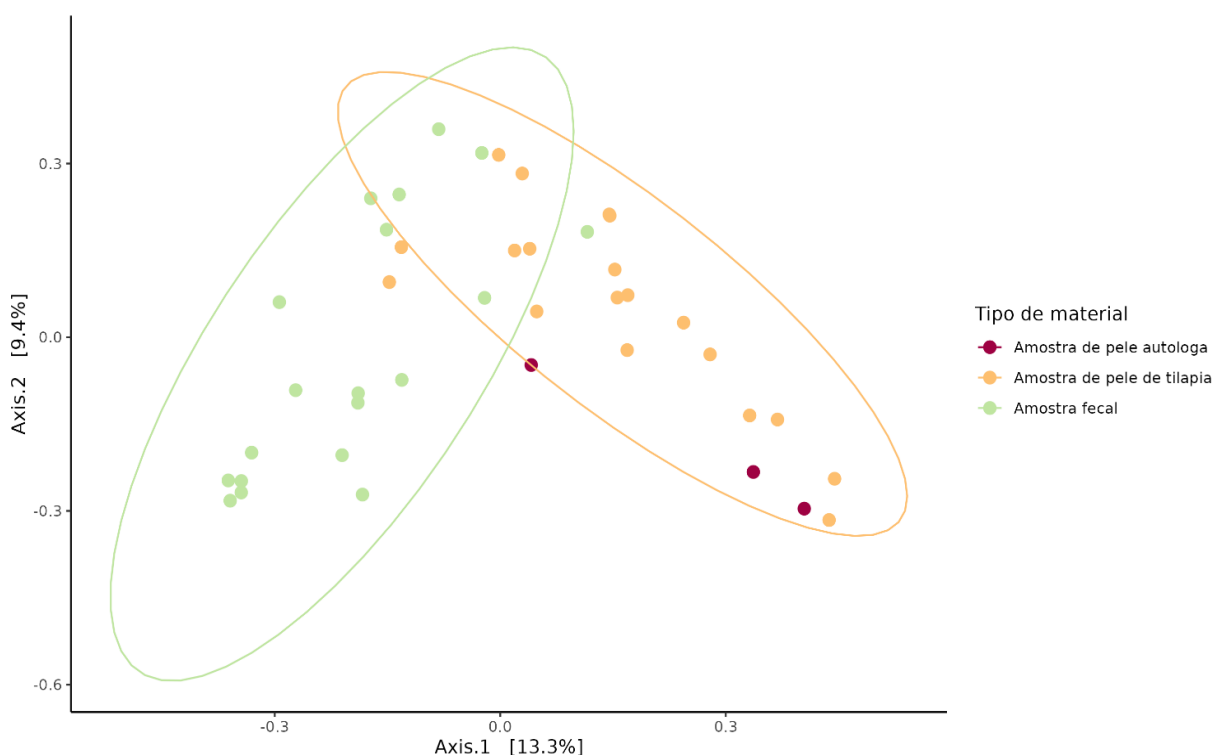
O índice **Shannon**, que combina riqueza e equitatividade, seguiu tendência semelhante: a diversidade foi mais alta nas amostras fecais, diferindo significativamente das demais ($p < 0,01$), enquanto as amostras vaginais apresentaram os menores valores. A diferença entre as amostras de pele autóloga e de tilápia não foi significativa, mas ambas diferiram significativamente da amostra vaginal controle ($p < 0,05$).

No índice **Evenness**, que mede a uniformidade na distribuição dos táxons, observou-se novamente que as amostras fecais exibiram os maiores valores, seguidas pelas amostras de pele de tilápia e pele autóloga. A amostra vaginal controle demonstrou a menor equitatividade, com diferença estatística significativa em relação aos demais grupos ($p < 0,01$). Não houve diferença entre pele autóloga e pele de tilápia.

4.6 Achados de beta diversidade

No que se refere aos achados de diversidade beta (diversidade entre diferentes amostras ou grupos de amostras), a análise de ordenação por PCoA, utilizando a distância de Bray-Curtis, evidenciou a formação de agrupamentos distintos entre os três grupos analisados: amostras de neovagina com pele de tilápia, de neovagina com enxerto de pele autóloga e amostras fecais (Gráfico10).

Gráfico 10 - PCoA das Comunidades Microbianas das amostras de neovagina, autóloga e fecal, usando a Distância de Bray-Curtis.

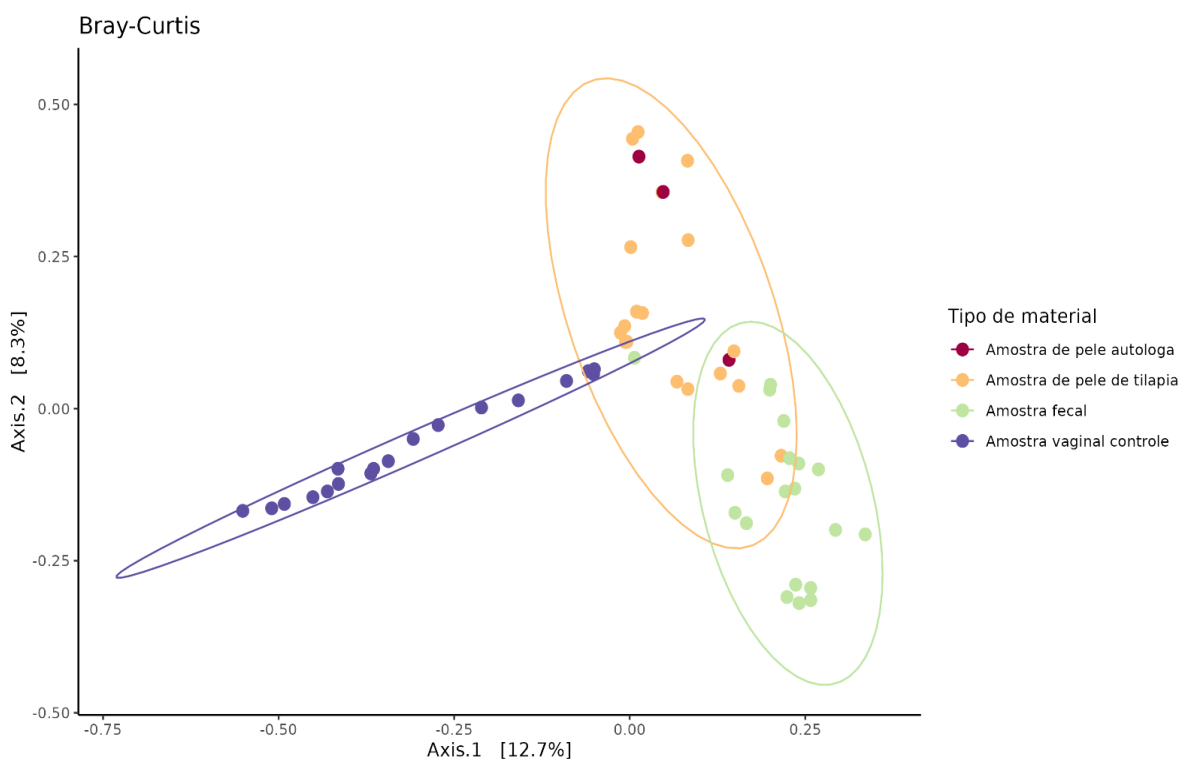


Cada ponto no gráfico representa uma amostra individual, e as elipses agrupam as amostras de acordo com o tipo de material. Observa-se que as amostras de material fecal formam um grupo coeso, separado dos grupos relacionados às neovaginas, indicando uma composição microbiana significativamente distinta do microbioma vaginal construído. Por outro lado, as amostras dos grupos de pele de tilápia e enxerto autólogo apresentam certa sobreposição, embora também se distribuam em padrões parcialmente distintos no espaço multivariado.

As análises estatísticas de comparação entre grupos indicaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre: neovagina com pele de tilápia e amostras fecais, assim como neovagina com enxerto de pele autóloga e amostras fecais.

Após acrescentar as amostras do grupo de controle, a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis evidenciou diferenças marcantes na composição microbiana entre os grupos analisados (gráfico 11).

Gráfico 11 - PCoA das Comunidades Microbianas das amostras de neovaginas (tilápia e autóloga), fecal e amostras vaginais controle, utilizando a Distância de Bray-Curtis.



As amostras vaginais controle formaram um cluster bem definido e separado das demais, com as amostras de pele autóloga distribuindo-se de maneira intermediária entre os grupos vaginais e os de pele de tilápia ou fecal. Essa separação visual foi corroborada por testes de similaridade entre grupos (ANOSIM), cujos valores de R e p indicam significância estatística relevante.

A comparação entre amostras de **pele autóloga** e **vaginal controle** apresentou um valor de $R = 0,974$ ($p = 0,002$), evidenciando alta dissimilaridade entre os grupos, embora estejam relativamente próximos no espaço multidimensional da PCoA. A **pele de tilápia** também se mostrou significativamente distinta da **amostra vaginal controle** ($R = 0,957$; $p = 0,001$) e da **amostra fecal** ($R = 0,377$; $p = 0,001$). A comparação entre **amostra fecal** e **vaginal controle** revelou o maior grau de dissimilaridade ($R = 0,988$; $p = 0,001$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de **pele autóloga** e **pele de tilápia** ($R = -0,029$; $p = 0,589$).

5. DISCUSSÃO

Nessa pesquisa de corte transversal, 23 mulheres submetidas à neovaginoplastia tiveram seus microbiomas vaginais investigados por plataformas de metagenômica. Cinco (05) pacientes fizeram a correção por técnica cirúrgica utilizando pele da região inguinal como implante autólogo e 18 utilizando pele do peixe tilápia do Nilo. As pacientes estavam em etapas diferentes dos seus pós-operatórios, o que permitiu a avaliação em uma população heterogênea. Por meio desse estudo, foi percebida a variedade de filos (Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Fusobacteriota e Proteobacteria), com aparecimento importante de gêneros como *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Streptococcus*, compatíveis com amostras vaginais. Entre os *Lactobacilli* identificados nas amostras neovaginais, observou-se predominância de *L. inners* e tendência à *Community State Types* (CST) tipo III e IV. Também foram encontrados *L. jensenii* e *L. gasseri*, com menor abundância relativa. As amostras fecais, utilizadas para comparação, apresentaram padrões e proporções diferentes das amostras neovaginais, com predomínio de *Prevotella*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Finnegoldia* e *Streptococcus*.

A composição do microbioma vaginal desempenha um papel essencial na manutenção da saúde reprodutiva feminina. Em mulheres na idade fértil, esse ecossistema é predominantemente colonizado por bactérias do gênero *Lactobacillus*, que contribuem para a defesa contra patógenos ao produzir ácido láctico, mantendo o pH vaginal em níveis baixos (aproximadamente 3,5 a 4,5). Esse ambiente ácido inibe o crescimento de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis* (WALTMANN, THOMAS, DUNCAN, 2023).

A presença de estrogênio estimula a deposição de glicogênio nas células epiteliais vaginais, o qual é metabolizado pelos *Lactobacillus* em ácido láctico, reforçando a acidez do meio e dificultando a colonização por bactérias indesejadas. Além disso, os *Lactobacillus* produzem peróxido de hidrogênio, que possui propriedades antimicrobianas adicionais (O'HANLON, COME, MOENCH, 2019; AVITABILE *et al.*, 2024).

A disbiose vaginal, caracterizada pela redução ou ausência de *Lactobacillus* e

aumento de bactérias anaeróbias, está associada à vaginose bacteriana (VB). Nessa condição, observa-se um aumento do pH vaginal (acima de 4,5) e a predominância de microrganismos como *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma* e *Prevotella*. Em particular, a *G. vaginalis* possui fatores de virulência que facilitam sua adesão ao epitélio vaginal e formação de biofilmes, contribuindo para os sintomas da VB (CHEN *et al.*, 2021; AVITABILE *et al.*, 2024).

Fatores como uso de anticoncepcionais, alterações hormonais, obesidade e procedimentos cirúrgicos, podem predispor à disbiose vaginal. A compreensão desses mecanismos é fundamental para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem restaurar e manter a eubiose vaginal, promovendo a saúde ginecológica e reprodutiva das mulheres. Fatores locais, como o pH vaginal, a produção de muco e a interação imunológica com o hospedeiro, são descritos como importantes moduladores da microbiota vaginal (CHEN *et al.*, 2021; AGGARWAL *et al.*, 2023).

A análise comparativa dos diferentes grupos revelou que as neovaginas, tanto com pele de tilápia quanto com pele autóloga, compartilham características composicionais relevantes com a microbiota vaginal de mulheres do grupo controle. Em ambos os casos (tilápia e enxerto de pele), observou-se a presença de *Lactobacillus* e *Prevotella*, gêneros frequentemente encontrados em vaginas com perfil microbiológico normal ou intermediário (ZHOU *et al.*, 2007; RAVEL *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2021).

Embora a presença de *Lactobacilli* tenha sido mais variável nas neovaginas, sua detecção é um indicativo importante de possível adaptação da mucosa neovaginal às condições do nicho vaginal, especialmente sob influência estrogênica. Esses achados têm implicações clínicas importantes, uma vez que a presença de *Lactobacillus* pode contribuir para uma microbiota mais estável, com menor risco de infecções ou disbiose (BROTMAN, 2011; ELKAFAS *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2025).

Ao compararmos os microbiomas das neovaginas avaliadas neste estudo com os perfis descritos por Ravel *et al.* (2011), observa-se que não foram identificadas amostras neovaginais com composição compatível com CST I e II, e poucas compatíveis com CST V, caracterizados pela dominância de *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri* ou *L. jensenii*, respectivamente (Figura 1 e Tabela 5). Tais tipos são os mais comumente associados a uma microbiota vaginal considerada “saudável”, por manterem o pH ácido e exercerem efeitos protetores contra patógenos (RAVEL *et al.*,

2011; CHEN *et al.*, 2021; KWON, LEE, 2022).

Por outro lado, os microbiomas das neovaginas analisadas, tanto com pele autóloga quanto com pele de tilápia, apresentaram perfis mais compatíveis com CST III, caracterizado pela dominância de *L. iners*, e com CST IV, que se caracteriza por baixa abundância de *Lactobacillus* e maior diversidade de bactérias anaeróbias estritas, como *Gardnerella*, *Prevotella* e outras espécies potencialmente associadas à disbiose vaginal (RAVEL *et al.*, 2011).

Estudos sugerem que *L. iners* possuem um papel ambíguo entre a promoção da saúde e a facilitação de doenças. Diferentemente de outras espécies de *Lactobacillus*, *L. inners* possui um genoma pequeno, produz apenas ácido láctico na forma L e não sintetiza peróxido de hidrogênio, o que compromete sua eficácia na proteção contra patógenos. Além disso, sua resistência a ambientes de pH elevado e sua capacidade de adesão às células epiteliais conferem vantagens adaptativas, inclusive em condições de disbiose, sendo frequentemente classificados como uma espécie de transição que coloniza a vagina após uma perturbação ecológica. Também pode ser um fator de risco para infecções sexualmente transmissíveis, infertilidade e desfechos adversos na gravidez (trabalho de parto prematuro). A literatura aponta que

L. iners não deve ser considerado apenas um microrganismo simbiótico, mas sim uma espécie de função ambivalente, cujo impacto na saúde vaginal depende do contexto ecológico e imunológico do hospedeiro (PETROVA *et al.*, 2017; VANEECHOUTTE, 2017; ZHENG *et al.*, 2021).

A ausência de *Lactobacillus crispatus* nas amostras analisadas pode ser explicada por múltiplos fatores, entre eles, a diversidade étnico-racial da população brasileira incluída neste estudo. Conforme demonstrado por Ravel *et al.* (2011), a composição do microbioma vaginal varia significativamente entre grupos étnicos, sendo o CST I (caracterizado pela dominância de *L. crispatus*) mais prevalente em mulheres brancas (45,4%), enquanto mulheres negras, hispânicas e asiáticas apresentaram maior predominância dos CSTs III e IV, compostos principalmente por *L. iners* e microbiotas mistas ou com maior diversidade anaeróbia. A análise da nossa amostra revelou predomínio do CST III, com alta frequência de *Lactobacillus iners*, mesmo entre mulheres brancas, sendo que *L. crispatus* não foi identificado em nenhuma amostra, corroborando o padrão observado em populações não brancas. Por exemplo, nas amostras de mulheres autodeclaradas como pretas e pardas,

observou-se abundância relativa de *L. iners* variando de 10,1% a 93,6%, com destaque para uma amostra autóloga parda contendo 82,3% de *L. iners* (Tabela 5). Além disso, várias amostras do grupo com enxerto de pele de tilápia, mesmo entre mulheres autodeclaradas como etnia branca, também apresentaram composição compatível com CST IV, com redução de lactobacilos e aumento de gêneros anaeróbios como *Gardnerella*, *Prevotella*, *Megasphaera* e *Sneathia*. Esses achados reforçam a influência da ancestralidade genética na estrutura do microbioma vaginal, e sugerem que, em uma população miscigenada como a brasileira, a ausência de *L. crispatus* pode refletir uma variação natural, e não necessariamente uma condição de disbiose. Essa interpretação é importante para evitar o viés de normatização de microbiotas baseadas exclusivamente em populações europeias ou norte-americanas.

Desta forma, os achados da pesquisa sugerem que as neovaginas, seja por não possuírem estrutura epitelial, imunológica e hormonal idênticas às da vagina biológica, seja pelo estado inflamatório pós cirúrgico, podem apresentar maior dificuldade em sustentar uma microbiota típica. Além disso, as possíveis diferenças na produção de muco e de glicogênio - importantes substratos para a fermentação e crescimento de *Lactobacillus* - supostamente contribuem para a manutenção de um CST IV persistente. Tais resultados podem sugerir a necessidade de estratégias complementares que favoreçam a maturação microbiológica dessas neovaginas, promovendo um ambiente mais semelhante ao vaginal nativo (CHEE; CHEW; THAN, 2020).

Por outro lado, a microbiota fecal das pacientes do estudo apresentou perfil distinto, caracterizado pela predominância de gêneros típicos do trato gastrointestinal, além de uma maior diversidade geral representada pelo grupo de microrganismos de baixa abundância, que isoladamente correspondem a menos de 2,5% cada. A ausência ou baixa representatividade de *Lactobacilli* nesse grupo reforça o contraste com os ambientes vaginais, sugerindo que a colonização da neovagina, embora construída a partir de tecidos não vaginais, tende a se diferenciar progressivamente da microbiota fecal e a se aproximar de um padrão vaginal.

A avaliação da diversidade alfa evidenciou diferenças significativas na composição microbiana entre os microbiomas fecais e neovaginais, independentemente do material utilizado na neovaginoplastia. Os índices de riqueza (Observed), diversidade (Simpson e Shannon) e uniformidade (Evenness) foram

consistentemente mais elevados nas amostras de material fecal em comparação às amostras de conteúdo vaginal das neovaginas, indicando uma microbiota mais diversa e uniformemente distribuída no intestino. Esses achados são coerentes com a literatura, que aponta o intestino como um ambiente naturalmente mais complexo e dinâmico em termos de diversidade microbiana (ELKAFAS *et al*, 2022). Além disso, os achados indicaram uma diversidade alfa da microbiota vaginal controle tipicamente mais baixa, com predomínio de poucos gêneros bacterianos, especialmente *Lactobacillus*, o que é compatível com um estado de eubiose vaginal. As amostras de neovagina com pele autóloga e de tilápia apresentaram diversidade intermediária, com semelhanças entre si, mas ainda distintas do padrão vaginal nativo.

Os resultados da análise de beta diversidade, baseada na distância de Bray-Curtis, demonstraram que o microbioma das neovaginas construídas com pele de tilápia e com enxerto de pele autóloga apresentaram perfis microbianos mais próximos entre si do que em comparação ao microbioma fecal das pacientes participantes do estudo.

As diferenças observadas entre as análises das amostras neovaginais e de amostras fecais levantam a hipótese de que o ambiente anatômico da neovagina pode favorecer a seleção de uma comunidade microbiana específica, distinta daquela presente no trato gastrointestinal.

A sobreposição parcial entre os grupos de amostras de neovagina com pele de tilápia e neovagina com pele autóloga, sem diferenças estatisticamente significantes, pode sugerir que a estrutura ecológica do ambiente vaginal reconstruído exerce papel mais determinante na composição microbiana do que a natureza do material enxertado propriamente dito. As diferenças significativas entre o microbioma neovaginal e o microbioma fecal sugerem que esses ambientes, embora possam ter origens microbianas comuns em fases iniciais da colonização, desenvolvem-se de forma independente e adaptativa, possivelmente moldados por pressões seletivas específicas.

Esses achados são relevantes para a compreensão da colonização microbiana em neovaginas, sugerindo que, mesmo em casos de reconstruções com materiais biológicos heterólogos, ocorre uma adaptação ecológica que pode ser favorecida por estratégias de modulação do microbioma, como o uso de probióticos específicos, com vistas à prevenção de infecções e ao sucesso funcional das

reconstruções (DE VRESE *et al.*, 2019).

Ainda com base nas análises de beta diversidade, as amostras do grupo vaginal controle formaram um *cluster* bem definido e coeso, evidenciando uma composição microbiana homogênea entre essas participantes. Em contraste, as amostras provenientes das neovaginas com pele de tilápia e pele autóloga apresentaram padrões de dispersão distintos, mais heterogêneos, e separados do grupo de controle vaginal. Notavelmente, as amostras fecais também formaram um agrupamento próprio, distinto de todos os outros nichos analisados.

Alguns estudos que avaliaram neovaginas criadas com diferentes técnicas sugeriram que as neovaginas de mulheres com SMRKH revestidas com membrana amniótica, peritônio ou biomaterial de engenharia de tecidos durante a criação completariam a metaplasia e seriam revestidas com o tempo com um epitélio metaplásico escamoso estratificado contendo glicogênio (FEDELE *et al.*, 2006; FEDELE *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2013; PIAZZA, 2021). Esse epitélio maduro pode fornecer um ambiente mais semelhante ao da vagina nativa, favorecendo a colonização por espécies típicas do microbioma vaginal, especialmente lactobacilos. No estudo de Chen *et al.* (2024), que acompanhou longitudinalmente pacientes com SMRKH submetidas à vaginoplastia peritoneal, observou-se uma transição progressiva do microbioma neovaginal ao longo de 2 a 4 anos. Inicialmente caracterizada por uma comunidade microbiana aleatória e dominada por espécies como *Enterococcus faecalis* e micoplasmas, a microbiota evoluiu para um perfil mais semelhante ao da vagina normal, com aumento da presença de *Lactobacillus iners*, *L. crispatus* e acidificação progressiva do pH. Esse processo foi acompanhado pela maturação do epitélio escamoso e pelo acúmulo de glicogênio, demonstrando a influência direta da morfologia tecidual sobre a ecologia microbiana. Portanto, é possível que a composição do microbioma observada em nosso estudo, realizado em pacientes com tempos pós-operatórios variados, reflita estágios distintos desse processo de adaptação epitelial e microbiana. Isso pode explicar, ao menos em parte, a heterogeneidade observada entre os perfis bacterianos das neovaginas, bem como a ausência de uma microbiota dominada por *Lactobacillus crispatus*, cuja presença, segundo Chen *et al.* (2024) está fortemente associada ao epitélio maduro e à colonização precoce da cavidade neovaginal por essa espécie.

Neste trabalho, em relação à microbiologia, conceitos novos da ciência se

encontram no estudo da neovagina: **microbioma**, **New Generation Sequencing (NGS)** e **metagenômica**. O microbioma humano, no que se refere às bactérias, desempenha papéis cruciais na saúde, contribuindo para a digestão, produção de vitaminas, modulação do sistema imunológico e proteção contra patógenos (OGUNRINOLA *et al.*, 2020; WALKER, HOYLES, 2023). A metagenômica, por sua vez, é a ciência que estuda os microbiomas em nível genético, permitindo a análise da diversidade e funcionalidade das comunidades microbianas sem a necessidade de cultivo em laboratório. Isso é particularmente importante, pois muitos microrganismos não podem ser cultivados usando métodos tradicionais (ZHANG *et al.*, 2021). O NGS refere-se a uma série de tecnologias avançadas de sequenciamento de DNA que permitem a análise rápida e abrangente de genomas inteiros e metagenomas. Ao contrário dos métodos de sequenciamento de primeira geração, que eram limitados e demorados, o NGS pode sequenciar milhões de fragmentos de DNA simultaneamente, tornando-o uma ferramenta poderosa para pesquisas em várias áreas da biologia, incluindo microbiologia, genética, e saúde pública, se estabelecendo cada vez mais como ferramenta fundamental para estudos de microbioma (THAPLIYAL *et al.*, 2024; MILLER; CHIU, 2021).

Neste estudo, foi utilizada a tecnologia de NGS, em plataformas de metagenômica, para se investigar o microbioma de mulheres com DDS, submetidas a correção cirúrgica da condição clínica e confecção de neovagina feita com pele da tilápia do Nilo ou com pele autóloga.

Extremamente relevantes, os trabalhos até então sobre microbiota das pacientes submetidas a neovaginoplastia dependiam de métodos moleculares simples ou de métodos microbiológicos envolvendo microscopia ou meios de cultura (de grande esforço e com a limitação de identificação exclusiva dos microrganismos cultiváveis) (QIN *et al.*, 2019; FRANCE *et al.*, 2022; TEOFILO *et al.*, 2023). Esta pesquisa de microbioma traz consigo os benefícios envolvendo a metagenômica para conclusões adicionais.

Os estudos de microbioma têm se destacado em várias áreas da ciência. Na área da saúde, consequências desses estudos têm mostrado que desequilíbrios no microbioma intestinal têm sido associados a condições como obesidade, diabetes, doenças inflamatórias intestinais e até distúrbios mentais como ansiedade e depressão (NISHIDA *et al.*, 2018; DABKE, HENDRICK, DEVKOTA, 2019; SIMPSON

et al., 2021). No caso dessa pesquisa, a investigação detalhada do microbioma desse novo nicho ecológico (neovaginas construídas com pele de tilápia do Nilo ou pele autóloga) só foi possível graças às novas plataformas de NGS e metagenômica.

Os benefícios já trazidos pelos estudos de microbioma são notáveis. Eles têm levado a uma melhor compreensão das interações entre humanos e microrganismos, contribuindo para avanços em tratamentos médicos, melhorias na saúde pública e inovações na agricultura e na indústria. O uso de NGS e metagenômica permite não apenas a identificação de microrganismos, mas também a compreensão de suas funções e interações, revelando um panorama complexo que pode ser explorado para promover saúde e sustentabilidade.

Utilizando NGS, o Projeto do Microbioma Humano (HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012) forneceu uma visão geral dos perfis microbianos e funcionais em diversos locais do corpo, incluindo a vagina. O estudo de Jie *et al.* (2022) revelou associações entre a microbiota vaginal e a história de vida, enquanto o trabalho de Fettweis *et al.* (2019) relacionou a microbiota vaginal ao parto prematuro. Uma contribuição fundamental para a base de dados de referência vem do catálogo de genes não redundantes vaginais (VIRGO) (MA *et al.*, 2020), que inclui cerca de 1 milhão de genes compilados a partir de dados metagenômicos e genômicos bacterianos. Embora essas descobertas confirmem a presença de uma comunidade microbiana diversificada na vagina, o conhecimento sobre o espectro completo de microrganismos permanece limitado, principalmente devido à falta de genomas de referência vaginais.

Nos últimos anos, um progresso significativo foi alcançado na aplicação da metodologia de agrupamento de genomas (MAG) montados a partir de metagenomas para obter uma vasta quantidade de informações genômicas de microrganismos cultivados e não cultivados. Esta abordagem tem se mostrado eficaz na exploração de microbiomas em vários locais do corpo humano, incluindo o intestino, cavidade oral e pele. Em particular, Pasolli *et al.* (2019), realizaram uma coleta abrangente de mais de 150.000 MAGs representando a microbiota humana. No entanto, essa coleção abrange apenas 151 genomas da vagina. Consequentemente, existe uma necessidade urgente de empreender esforços baseados em metagenômica visando estabelecer uma base de dados de genomas de referência ampliada, especificamente voltada para a microbiota vaginal (HUANG *et al.*, 2024).

A possibilidade de a pesquisa ser realizada com controles de microbioma em mulheres geneticamente relacionadas às pacientes operadas foi inicialmente cogitada. No entanto, essa decisão foi influenciada por diversos fatores do cenário da vida real, que moldaram seu desenho metodológico. O poder aquisitivo médio das pacientes teve impacto nessa decisão, pois muitas delas compareceram às consultas sem acompanhantes e vieram de regiões diversas, muitas com elevada distância do centro onde eram atendidas (MEAC), o que limitou a coleta de dados adicionais. Além disso, a natureza íntima do momento da consulta levou muitas pacientes a preferirem maior discrição, o que dificultou, como de costume, a interação e o compartilhamento de informações detalhadas. Esse contexto ressaltou a necessidade de respeitar o espaço pessoal e a privacidade das participantes, aspectos fundamentais para garantir um ambiente acolhedor e confortável.

Outro ponto crucial que direcionou a pesquisa foi a decisão de não comparar mulheres submetidas a diferentes tipos de cirurgias em períodos similares: a comparação de um grupo de pacientes de neovaginoplastia autóloga com um grupo de neovaginoplastia utilizando pele de tilápia operadas em épocas próximas. O benefício do uso da pele de tilápia se estabeleceu rapidamente tão logo incorporada às práticas cirúrgicas (e passou a ser a técnica preferida, tornando praticamente ausente a prática de uso de enxerto autólogo), evidenciado pelos resultados clínicos positivos, o que fez com que a estrutura do estudo se assemelhasse mais a um desenho quase-experimental do que a um estudo de caso-controle. Os pesquisadores argumentam que essa abordagem não invalida os resultados obtidos; pelo contrário, o descritivo do microbioma, que é o foco principal da investigação, continua a ser um importante direcionador para a discussão sobre a influência do contexto cirúrgico e das características individuais das pacientes. Essa adaptação ao cenário real permitiu uma análise mais abrangente e realista dos dados, contribuindo para uma melhor compreensão das variáveis envolvidas.

A realização de pesquisas no Brasil enfrenta uma série de desafios que dificultam a produção de conhecimento de qualidade. Entre as barreiras estão a escassez de financiamento, a burocracia excessiva e a falta de infraestrutura adequada. Nesse contexto, as parcerias, como a que aconteceu para realização desta tese, se tornam não apenas desejáveis, mas essenciais para o avanço da ciência. Além disto, a união das instituições promoveu maior aprendizado para todos os alunos

envolvidos no projeto. Nessa pesquisa, foi combinada a experiência em saúde da mulher da MEAC/UFC, particularmente no que diz respeito ao desenvolvimento sexual e às correções cirúrgicas dessas condições, com a estrutura em pesquisa do NPDM e com a expertise em estudos de NGS (sequenciamento de nova geração) e microbioma, desenvolvida pelos laboratórios do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HCFMUSP). Essa colaboração não só potencializa os recursos disponíveis, mas também une conhecimentos diversos, permitindo que as questões complexas da saúde feminina sejam abordadas de maneira mais eficaz.

As reuniões entre estas equipes (da MEAC/UFC e do LIM49/HCFMUSP) foram estruturadas para garantir a factibilidade do projeto, com discussões periódicas, tanto presenciais quanto à distância. Isso permitiu que os protocolos fossem ajustados em tempo real, assegurando que os resultados fossem analisados continuamente e que as abordagens se adaptassem às necessidades emergentes da pesquisa. Essa dinâmica colaborativa não apenas facilitou a troca de conhecimentos, mas também fomentou um ambiente de aprendizado mútuo, onde cada membro da equipe contribuiu com sua especialidade.

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Primeiramente, os diferentes tempos entre a coleta da amostra e a data da cirurgia, o tamanho amostral relativamente reduzido e a heterogeneidade das participantes - em termos de diagnóstico de base (SMRKH, DDS XY, DDS XX, entre outros), cariótipo, tipo de reconstrução vaginal e características clínicas - podem influenciar a composição do microbioma vaginal de forma não controlada. Além disso, diversos fatores potencialmente interferentes foram identificados entre as participantes, como o uso recente de antibióticos (em especial metronidazol), o uso de medicações sistêmicas (como anticoncepcionais hormonais, antidepressivos e anticonvulsivantes), bem como o uso tópico de cremes vaginais e lubrificantes, que podem alterar temporariamente o pH vaginal e a estrutura da microbiota. A atividade sexual recente também foi relatada por algumas participantes, o que representa outra variável que pode impactar a dinâmica microbiana local. Adicionalmente, o uso contínuo ou intermitente de molde vaginal, com ou sem lubrificantes, pode influenciar tanto os parâmetros físico-químicos do conteúdo vaginal quanto a presença de lesões inflamatórias, secreções alteradas e granulomas, observados em alguns exames especulares. Todos esses fatores podem atuar como

vieses, interferindo na interpretação da real composição do microbioma e dificultando a identificação de associações causais robustas. Ainda assim, os achados refletem a complexidade da população brasileira e oferecem subsídios iniciais valiosos para investigações futuras com maior controle de variáveis.

6. CONCLUSÃO

Este estudo teve como escopo central a descrição do microbioma de neovaginas construídas com pele de tilápia liofilizada, evidenciando a capacidade desse biomaterial em sustentar comunidades microbianas semelhantes às aquelas observadas em vaginas naturais. Foram identificadas bactérias predominantes dos filos Firmicutes e Bacteroidota, com a presença de gêneros importantes como *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Streptococcus*. Observou-se tendência à formação de perfis compatíveis com *Community State Types* (CSTs) III e IV, indicando um ecossistema polimicrobiano com redução de lactobacilos e aumento de gêneros anaeróbios ou com tendência a dominância de *Lactobacillus iners*, que possui propriedades ambivalentes no equilíbrio entre eubiose e disbiose vaginal.

As análises de diversidade demonstraram que o microbioma das neovaginas com pele de tilápia apresenta características distintas tanto em relação ao microbioma fecal quanto ao microbioma vaginal de mulheres sem agenesia, mas guarda semelhanças com o microbioma de neovaginas construídas com pele autóloga.

Ressalte-se que a técnica de neovaginoplastia com pele de de tilápia impõe menor morbidade, menos dor e menor risco de complicações pós-cirúrgicas em relação ao procedimento com pele autóloga, apresentado perfis de variabilidade e qualidade microbiológicas semelhantes às do autoenxerto.

Como perspectivas futuras, sugerem-se estudos longitudinais para avaliar a estabilidade da microbiota ao longo do tempo, bem como investigações que explorem a influência de fatores hormonais, imunológicos e comportamentais sobre o microbioma neovaginal. A incorporação de análises funcionais e de perfil inflamatório poderá contribuir para uma compreensão mais ampla da interação entre o hospedeiro e a microbiota na neovagina, com impacto potencial na prevenção de infecções e na promoção da saúde ginecológica das pacientes submetidas à neovaginoplastia com esse biomaterial.

REFERÊNCIAS

- ACOG. American College of Obstetrics and Gynecology. Committee on Adolescent Health Care. ACOG Committee Opinion No.728: Müllerian agenesis: diagnosis, management, and treatment. **Obstet Gynecol.**, v.131, n.1, p.e35-e42, 2018.
- ADAM, M. P.; VILAIN, E. Emerging issues in disorders/differences of sex development (DSD). **Am J Med Genet C Semin Med Genet.**, v. 175, n. 2, p. 249-252, 2017.
- AGGARWAL, N. *et al.* Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies. **Chem Rev.**, 123, n. 1, p. 31-72, 2023.
- AHMED, S. F. *et al.* Society for Endocrinology UK Guidance on the initial evaluation of a suspected difference or disorder of sex development (Revised 2021). **Clin Endocrinol.**, v. 95, n. 6, p. 818-840, 2021.
- ALVES, A. P. N. N. *et al.* Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. **Cell Tissue Bank.**, v. 19, p. 373–382, 2018.
- AMABEBE, E.; ANUMBA, DOC. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. **Front Med (Lausanne).**, v. 5, p. 181, 2018.
- AMIES, O. A. M.; KIRBY, A.; BREECH, L. Evaluation and management of vaginoplasty complications. **Cur opinobstet gynecol.**, v. 29, n. 5, p. 316-321, 2017.
- ANDERSON, M. J. *et al.* Navigating the multiple meanings of β diversity: a roadmap for the practicing ecologist. **Ecol Lett.**, v. 14, n. 1, p. 19-28, 2011.
- ARBOLEDA, V. A.; SANDBERG, D. E.; VILAIN, E. DSDs: genetics, underlying pathologies and psychosexual differentiation. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 10, n. 10, p. 603-615, 2014.
- AVITABILE, E. *et al.* Protective Mechanisms of Vaginal Lactobacilli against Sexually Transmitted Viral Infections. **Int J Mol Sci.**, v. 25, n. 17, p. 9168, 2024.
- BARFFOUR, I. K. *et al.* GREB1L as a candidate gene of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome. **Eur J Med Genet.**, v. 64, n. 3, p. 104158, 2021.

BASSETTE, F. **Brasil se torna pioneiro em reconstrução de vagina com pele de peixe**. Veja, 7 jun. 2018. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/saude/brasil-se-torna-pioneiro-em-reconstrucao-de-vagina-com-pele-de-peixe/>. Acesso em: 20 maio 2025.

BENEDETTI, P. P. *et al.* Autologous in vitro cultured vaginal tissue for vaginoplasty in women with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: anatomic and functional results. **J Minim Invasive Gynecol.**, v. 22, n. 2, p. 205-211, 2015.

BIRSE, K. D. *et al.* The neovaginal microbiome of transgender women post-gender reassignment surgery. **Microbiome**, vol. 8, n. 61, 2020.

BOMBARD, D. S.; MOUSA, S. A. Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser: complications, diagnosis and possible treatment options: a review. **Gynecol Endocrinol.**, v.30, n.9, p. 618-623, 2014.

BOUAOUD, J. *et al.* Fraser syndrome: review of the literature illustrated by a historical adult case. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 49, n. 10, p. 1245-1253, 2020.

BOULANGÉ, C. L. *et al.* Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. **Genome Med.**, v. 8, n. 1, p. 42, 2016.

BRÄNNSTRÖM, M. *et al.* Livebirth after uterus transplantation. **The Lancet**, London, v. 385, n. 9968, p. 607–616, 14 fev. 2015.

BRÄNNSTRÖM, M. *et al.* One uterus bridging three generations: first live birth after mother-to-daughter uterus transplantation. **Fertil Steril.**, v. 106, n. 2, p. 261-266, 2016.

BRINDEAU A. Création d'un vagin artificiel à l'aide des membranes ovulaires d'un oeuf à terme. **Gynecol Obstet.**, v. 29, p. 385-392, 1934.

BROTMAN, R. M. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. **J Clin Invest.**, v. 121, n. 12, p. 4610-4617, 2011.

BRUCKER, S.Y. *et al.* Treatment of congenital malformations., **Semin Reprod Med.**, v.29, n.2, p. 101-112, 2011.

BRUNO, Z. V. *et al.* Vaginoplasty using Inguinal Flap in a Tertiary Care Center. **Int J Res Stud Biosc.**, v. 5, n. 2, p. 29-33, 2017.

CALLENS, N. *et al.* An update on surgical and non-surgical treatments for vaginal hypoplasia. **Hum reprod update**, v. 20, n. 5, p. 775–801, 2014.

CAPORASO, J.G. *et al.* Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108 n. 1, p. 4516-4522, 2011.

CASSOL, I.; IBÁÑEZ, M.; BUSTAMANTE, J. P. Key features and guidelines for the application of microbial alpha diversity metrics. **Sci Rep.**, v. 15, n. 1, p. 622, 2025.

CHEE, W. J. Y.; CHEW, S. Y.; THAN, L. T. L. Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. **Microb Cell Fact.**, v, 19, n. 1, p. 203, 2020

CHEN, C. *et al.* The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. **Nat Commun.**, v.8, n.1, p. 875,2017.

CHEN, N. *et al.* Insights into the assembly of the neovaginal microbiota in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome patients. **Nat Commun.**, v. 15, n. 1, p. 7808, 2024.

CHEN, N. *et al.* Update on Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. **Front Med.**, v. 16, n. 6, p. 859-872, 2022.

CHEN, X. *et al.* The Female Vaginal Microbiome in Health and Bacterial Vaginosis. **Front Cell Infect Microbiol.**, v. 11, p. 631972, 2021.

CHO, I; BLASER, M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. **Nat Rev Genet.**, v. 13, n. 4, p. 260-70, 2012.

CHOUSSEIN, S.; NASIOUDIS, D.; ECONOMOPOULOS, K.P. Mullerian dysgenesis: a critical review of the literature. **Arch Gynecol Obstet.**, v. 295, n. 6, p. 1369-1381,2017.

COOLS, M. *et al.* COST Action BM1303 working group 1. Caring for individuals with a difference of sex development (DSD): a Consensus Statement. **Nat Rev Endocrinol.**, v. 14, n. 7, p. 415-429, 2018.

COSTA, B. A. *et al.* Use of Tilapia Skin as a Xenograft for Pediatric Burn Treatment: A Case Report. **J Burn Care Res.**, v. 40, n.5, p.714-717, 2019.

DA GRACA, B. *et al.* Uterus transplantation: ethical considerations. **Curr Opin Organ**

Transplant., v. 26, n. 6, p. 664-668, 2021.

DABKE, K.; HENDRICK, G.; DEVKOTA, S. The gut microbiome and metabolic syndrome. **J Clin Invest.**, v. 129, n. 10, p. 4050-4057, 2019.

D'AMICO, G. *et al.* Immunosuppression in uterus transplantation: from transplant to delivery. **Expert Opin Pharmacother.**, v. 24, n. 1, p. 29-35, 2023.

DAVYDOV, S.N.; ZHVITIASHVILI, O.D. Formation of vagina (colpogenesis) from peritoneum of Douglas pouch. **Acta Chir Plast.**, v. 16, n.1, p.35-41, 1974.

DE VRESE, M. *et al.* Impact of oral administration of four Lactobacillus strains on Nugent score - systematic review and meta-analysis. **Benef Microbes.**, v. 10, n. 5, p. 483-496, 2019.

DELLI, P. E. *et al.* Androgen insensitivity syndrome: a review. **J Endocrinol Invest.**, v. 46, n. 11, p. 2237-2245, 2023.

DIAS, M. T. P. M. *et al.* Neovaginoplasty for radiation-induced vaginal stenosis using Nile Tilapia Fish Skin as a biologic graft. **J Surg Case Rep.**, v. 11, p.1-3, 2019a.

DIAS, M. T. P. M. *et al.* Neovaginoplasty using Nile Tilapia Fish Skin as a new biologic graft in patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome. **J Minim Invasive Gynecol.**, v. 27, n. 4, p. 966-972, 2020.

DIAS, M. T. P. M. *et al.* Tilapia fish skin as a new biologic graft for neovaginoplasty in Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: a video case report. **Fertil Steril.**, v. 112, n. 1, p. 174-176, 2019.

DIETRICH, J. E. Review of Surgical Neovagina Techniques and Management of Vaginal Stricture. **J Pediatr Adolesc Gynecol.**, v. 35, n.2, p. 121-126, 2022.

EJZENBERG, D. *et al.* Livebirth after uterus transplantation from a deceased donor in a recipient with uterine infertility. **Lancet.**, v. 392, n. 10165, p. 2697-2704, 2019.

ELKAFAS, H. *et al.* Gut and genital tract microbiomes: Dysbiosis and link to gynecological disorders. **Front Cell Infect Microbiol.**, v. 12, p. 1211349, 2022.

FEDELE, F. *et al.* Assisted reproductive technology outcomes in women with congenital uterine anomalies: a systematic review. **Arch Gynecol Obstet.**, v. 310, n.

5, p. 2315-2332, 2024.

FEDELE, L. *et al.* Creation of a neovagina by Davydov's laparoscopic modified technique in patients with Rokitansky syndrome. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 202, n. 1, p. 33.e1–6, 2010.

FEDELE, L. *et al.* Neovaginal mucosa after Vecchietti's laparoscopic operation for Rokitansky syndrome: structural and ultrastructural study. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 195, n. 1, p. 56–61, 2006.

FETTWEIS, J. M. *et al.* The vaginal microbiome and preterm birth. **Nat Med.**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2019.

FONTANA, L. *et al.* Genetics of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. **Clin Genet.**, v. 91, n. 2, p. 233-246, 2017.

FRANASIAK, J.M.; SCOTT, R.T. Endometrial microbiome. **Curr Opin Obstet Gynecol.**, v. 29, n. 3, p. 146-152, 2017.

FRANASIAK, J.M.; SCOTT, R.T. Introduction: Microbiome in human reproduction. **Fertil Steril.**, v.104, n.6, p.1341-1343,2015.

FRANCE, M. *et al.* Towards a deeper understanding of the vaginal microbiota. **Nat Microbiol.**, v. 7, n. 3, p. 367-378, 2022.

FRANCO, M.L.R.S. *et al.* Comparação das peles de tilápia do Nilo, pacu e tambaqui: histologia, composição e resistência. **Arch Zootec.**, v. 62, n. 237, p.21-32, 2013.

FRANK, R. T. The formation of an artificial vagina without operation. **Am J Obstet Gynecol.**, v. 35, p. 1053–1055,1938.

FUKUDA, K, *et al.* Molecular Approaches to Studying Microbial Communities: Targeting the 16S Ribosomal RNA Gene. **J UOEH.**, v. 38, n. 3, p. 223-232, 2016.

FURUYA, W. M.; CRUZ T. P. D. Gatlin DM 3rd. Amino Acid Requirements for Nile Tilápia: An Update. **Animals** (Basel), v. 13, n. 5, p. 900, 2023.

GARCIA-VELASCO, J. A; MENABRITO, M.; CATALÁN, I. B. What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review. **Reprod Biomed Online.**, v.35, n. 1, p. 103-112, 2017.

GELETU, T. T.; ZHAO, J. Genetic resources of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) in its native range and aquaculture. **Hydrobiologia**, v. 850, p. 2425–2445, 2023.

GEORGAS, K. *et al.* Bowel vaginoplasty: a systematic review. **J Plast Surg Hand Surg**, v. 52, n. 5, p. 265-273, 2018.

GHOSH, T. S.; KWAUWUKUME, E. Y. Construction of an artificial vagina with sigmoid colon in vaginal agenesis. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 45, n. 1, p. 41-45, 1994.

GOMEZ-LOBO, V. *et al.* Disorders of Sexual Development in Adult Women. **Obstet Gynecol**, v. 128, n. 5, p. 1162-1173, 2016.

GREEN, K. A.; ZAREK, S. M.; CATHERINO, W. H. Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract. **Fertil Steril**, v. 104, p.1351-1357, 2015.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The human microbiome: our second genome. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v. 13, p. 151–170, 2012.

GULÍA, C. *et al.* Androgen insensitivity syndrome. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 22, n. 12, p. 3873-3887, 2018.

HCFMUSP. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. **HCFMUSP realiza primeiro transplante de útero entre pacientes vivas**. Conecta HC, São Paulo, 04 out. 2024. Disponível em:<https://conecta.hc.fm.usp.br/conectahc/saiu-na-midia/hcfmusp-realiza-primeiro-transplante-de-utero-entre-pacientes-vivas>. Acesso em: 17 maio 2025.

HERLIN, M. K. Genetics of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome: advancements and implications. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 15, p. 1368990, 2024.

HERLIN, M. K.; PETERSEN, M.B.; BRÄNNSTRÖM, M. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome: a comprehensive update. **Orphanet J Raro Dis**, v.15, n.1, p. 1-16, 2020.

HERLIN, M.; PETERSEN, M. B. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. **Ugeskr Laeger**, v. 179, n. 13, p. V10160744, 2017.

HOLLISTER, E. B.; GAO, C.; VERSALOVIC, J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. **Gastroenterol.**, v. 46, n. 6, p. 1449-1458, 2014.

HUANG, L. *et al.* A multi-kingdom collection of 33,804 reference genomes for the human vaginal microbiome. **Nat Microbiol.**, v. 9, n. 8, p. 2185-2200, 2024.

HUGHES, I. A. Disorders of sex development: a new definition and classification. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.**, v. 22, n. 1, p. 119-134, 2008.

HUGHES, I. A. *et al.* Consensus statement on management of intersex disorders. **Arch Dis Child.**, v. 91, n. 7, p. 554-563, 2006.

HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 207–214, 2012.

IHGSC. INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature.**, v. 409, p. 860–921, 2001.

INSTITUTO ROKI. *Tratamentos para a Síndrome de Rokitansky* [imagem]. [s.d.]. Disponível em: <https://institutoroki.org.br/pt/sobre-a-sindrome/tratamentos/>. Acesso em: 03 maio 2025.

JANDHYALA, S. M. *et al.* D. Role of the normal gut microbiota. **World J Gastroenterol.**, v. 21, n. 29, p. 8787-8803, 2015.

JIE, Z. *et al.* Life History Recorded in the Vagino-cervical Microbiome Along with Multi-omes. **Genomics Proteomics Bioinformatics.** v. 20, n. 2, p. 304-321, 2022.

KHALIL, M. *et al.* Unraveling the Role of the Human Gut Microbiome in Health and Diseases. **Microorganisms.** v. 12, n. 11, p. 233, 2024.

KOMODROMOU, I. *et al.* Exploring the Dynamic Relationship between the Gut Microbiome and Body Composition across the Human Lifespan: A Systematic Review. **Nutrients.** v. 16, n. 5, p. 600, 2024.

KRAKOWSKY, Y *et al.* The Effect of Gender-Affirming Medical Care on the vaginal and Neovaginal Microbiomes of Transgender and Gender-Diverse People. **Front Cell Infect Microbiol.**, v. 11, p. 769950, 2022.

KUMAR, S.; SHARMA, S. MURCS (Müllerian duct aplasia–renal agenesis–cervicothoracic somite dysplasia): a rare cause of primary amenorrhoea. **Oxf Med Case Rep.**, v. 2016, n. 4, p. 73-75, 2016

KWON, M. S.; LEE, H. K. Host and Microbiome Interplay Shapes the Vaginal Microenvironment. **Front Immunol.**, n. 13, p. 919728, 2022.

LEE P. A. *et al.* Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. **Pediatrics.**, v. 118, n. 2, p. e488-500, 2006.

LEE, P. A. *et al.* Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. **Horm Res pediatric.**, v. 85, n. 3, p. 158-180, 2016.

LEWIS, F.M.; BERNSTEIN, K.T.; ARAL, S.O. Vaginal microbiome and its relationship to behavior, sexual health, and sexually transmitted diseases. **Obstet Gynecol.**, v.129, n. 4, p. 643-654, 2017.

LIMA JUNIOR, E.M. *et al.* Innovative Burn Treatment Using Tilápia Skin as a Xenograft: A Phase II Randomized Controlled Trial. **J Burn Care Res.**, v. 41, n.3, p.585–592, 2020.

LIMA JUNIOR, E. M. *et al.* Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**, v.16, p. 10–17, 2017.

LIMA JUNIOR, E. M. *et al.* Uso da pele de tilápia do Nilo em medicina regenerativa: status atual e perspectivas futuras. **Rev. Bras. Queimaduras**, v. 19, n. 1, p. 78-83, 2020.

LIMA JUNIOR, E.M. *et al.* Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. **J Heal Biol Sci.**, v.4, n.3, p.193–197, 2016.

LIMA VERDE, M. E. Q. *et al.* Nile tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) for burn treatment: ultrastructural analysis and quantitative assessment of collagen. **Acta Histochem.**, v. 123, n. 6, p. 151762, 2021.

LIN, W. C. *et al.* Use of autologous buccal mucosa for vaginoplasty: a study of eight cases. **Hum Reprod.**, v. 18, n. 3, p. 604-607, 2003.

LISZEWSKA-KAPŁON, M. *et al.* Syndrome as an interdisciplinary problem. **Adv Clin Exp Med.**, v. 29, n. 4, p. 550-551, 2020

LLOYD-PRICE, J *et al.* Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. **Nature.** v. 551, n. 7679, p. 256, 2017.

MA, B. *et al.* A comprehensive non-redundant gene catalog reveals extensive within-community intraspecies diversity in the human vagina. **Nat Commun.**, v. 11, n. 1, p. 940, 2020.

MARTIN, F.; TULLIUS, S. G. Immunosuppression after uterus transplantation. **Curr Opin Organ Transplant.**, v. 26, n. 6, p. 627-633, 2021.

McINDOE, A. H.; BANISTER, J. B. An operation for the cure of congenital absence of the vagina. **J Obstet Gynaecol Br Emp**, vol. 45, p. 490, 1938.

McMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS One.**, vol. 8, n. 4, p. e6, 2013.

MEAC. Maternidade Escola Assis Chateaubriand. **Protocolo da linha de cuidado das diferenças de desenvolvimento sexual (DDS).** 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-nordeste/ch-ufc/aceso-a-informacao/protocolos-e-pops/protocolos-meac/maternidade-escola-assis-chateaubriand>. Acesso em: 28 abr 2025

MILLER, K. L. *et al.* Complete androgen insensitivity syndrome: A case series and review of the literature. **Endocrine Reviews**, v. 42, n.5, p. 648-669, 2021.

MILLER, S.; CHIU, C. The Role of Metagenomics and Next-Generation Sequencing in Infectious Disease Diagnosis. **Clin Chem.**, v. 68, n. 1, p. 115-124, 2021.

MOR, A.; DRIGGERS, P. H.; SEGARS, J. H. Molecular characterization of the human microbiome from a reproductive perspective. **Fertil Steril.**, v. 104, n. 6, p. 1344-1350, 2015.

MORA, R.M. *et al.* Systematic Review: The Neovaginal Microbiome. **Urology.** v.S0090-4295, n. 22, p. 00176-5, 2022

MORENO, I.; FRANASIAK, J.M. Endometrial microbiota-new player in town. **Fertil**

Steril, v. 108, n. 1, p. 32-39, 2017.

MORRIS J. M. The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. **Am J Obstet Gynecol.**, v. 65, n. 6, p. 1192-1211, 1953.

MUNOZ, A. E. P. *et al.* **Piscicultores e demais agentes da cadeia produtiva discutem os custos de produção da tilápia no açude Castanhão, Jaguaribara, Ceará.** Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015. 6 p. (Informativo Campo Futuro, 13). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1027120>. Acesso em: 17 maio 2024.

NISHIDA, A. *et al.* Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Clin J Gastroenterol.**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2018.

OGUNRINOLA, G. A. *et al.* The Human Microbiome and Its Impacts on Health. **Int J Microbiol.**, v. 2020, p. 8045646, 2020.

O'HANLON, D. E.; COME, R. A.; MOENCH, T. R. Vaginal pH measured in vivo: lactobacilli determine pH and lactic acid concentration. **BMC Microbiol.**, v. 19, n. 1, p. 13, 2019.

OKSANEN, J. *et al.* **Vegan community ecology package version 2.5-7 November 2020.**

PASOLLI, E. *et al.* Extensive Unexplored Human Microbiome Diversity Revealed by Over 150,000 Genomes from Metagenomes Spanning Age, Geography, and Lifestyle. **Cell.**, v. 176, n. 3, p. 649-662, 2019.

PERROTTA, A. R. *et al.* The Vaginal Microbiome as a Tool to Predict rASRM Stage of Disease in Endometriosis: a Pilot Study. **Reprod Sci.**, v. 27, n. 4, p. 1064-1073, 2020.

PETERSON, J. *et al.* The NIH Human Microbiome Project. **Genome Res.**, v. 19, p.2317-2323, 2009.

PETROVA, M. I, *et al.* *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? **Trends Microbiol.**, v. 25, n. 3, p. 182-191, 2017.

PIAZZA, M. J. Study and evaluation of neovagina epithelium. **JBRA Assist Reprod.**, v. 25, n. 4, p. 581-585, 2021.

PINES, A. Microbiótica in women. **Climateric**, v.18, n.5, p.666-668,2015.

PONTES, A. *et al.* Attending women with 46,XY karyotype. **FEMINA**, v. 50, n. 2, p. 71-90, 2022.

PORTO, R. **UFC abre edital de licitação para produzir pele de tilápia em escala industrial.** Fortaleza: iBand CE, 23 jan. 2025. Disponível em: <https://ibandce.com.br/ufc-abre-edital-de-licitacao-para-produzir-pele-de-tilapia-em-escala-industrial/>. Acesso em: 18 maio 2025.

PROCTOR, L. M. *et al.* The integrative Human Microbiome Project. **Nature**. v. 569, n. 7758, p. 641-648, 2019.

QIN C. *et al.* Analysis of the artificial vaginal microecology in patients after laparoscopic peritoneal vaginoplasty. **Sci Rep.**, v. 9, n. 1, p. 8482, 2019.

RAVEL, J. *et al.* Vaginal microbiome of reproductive-age women. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 108, n. 1, p. 4680-4687, 2011.

RODRÍGUEZ, Á. H. *et al.* Male-to-Female Gender-Affirming Surgery Using Nile Tilapia Fish Skin as a Biocompatible Graft. **J Minim Invasive Gynecol.**, v. 27, n. 7, p. 1474-1475, 2020.

ROJAS-VARGAS J, *et al.* The Neovaginal Microbiota, Symptoms, and Local Immune Correlates in Transfeminine Individuals with Penile Inversion Vaginoplasty. **BioRxiv [Preprint]**. v. 2025, n. 3, p. 1-50, 2025.

RUTAYISIRE, E. *et al.* The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. **BMC Gastroenterol.**, v. 16, n. 1, p. 86, 2016.

SIMPSON, C. A. *et al.* The gut microbiota in anxiety and depression - A systematic review. **Clin Psychol Rev.**, v. 83, p. 101943, 2021.

SLONGO, H. *et al.* Neovaginoplasty after Sex Reassignment Surgery. **J Minim Invasive Gynecol**, vol.27, n. 6, p. 1226, 2020.

SMITH, S.B.; RAVEL, J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. **J Physiol.**, v.595, n. 2, p. 451-463, 2017.

SOARES, J. M. J. *et al.* First Latin uterine transplantation: we can do it! **Clinics**, v. 71, n. 1, p. 627-628, 2016.

STOEHR, J. R.; MOSS, C.; JEHROMO, A. H. The microbiome of the neovagina: a systematic review and comparison of surgical techniques. **Int J Transgend Health.**, v. 25, n. 4, p. 623-633, 2023.

SUETERS, J. *et al.* Tissue Engineering Neovagina for Vaginoplasty in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome and Gender Dysphoria Patients: A Systematic Review. **Tissue Eng Part B Rev.**, v. 29, n. 1, p. 28-46, 2023.

SYRYN, H.; VAN DE VIJVER, K.; COOLS, M. Ovotesticular Difference of Sex Development: Genetic Background, Histological Features, and Clinical Management. **Horm Res Paediatr.**, v. 96, n. 2, p. 180-189, 2023.

TEÓFILO, C. R. *et al.* Neovaginoplasty With Nile Tilapia Skin: Cytological and Microbiota Evaluation. **J Low Genit Tract Dis.**, v. 27, n.3, p. 275-279, 2023.

THAPLIYAL, P. *et al.* Next Generation Sequencing: Latent applications in clinical diagnostics with the advent of bioinformatic frameworks. **Pathol Res Pract.**, v. 263, p. 155606, 2024.

THOMAS, T. N.; FERRANDO, C. A. Construction of the Neovagina. In: Firoozi, F. Cap: 22. **Female Pelvic Surgery**. p. 283-315. Springer, Cham. 2020.

TOOLENAAR, T. A *et al.* Bacterial flora of the sigmoid neovagina. **J Clin Microbiol.**, v. 31, n. 12, p. 3314-3316, 1993.

TORRES, A. *et al.* Neovaginoplasty with tilapia fish skin: a series of eleven cases. **Int Urogynecol J.**, v. 33, n. 8, p. 2185-2193, 2022.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

TURNBAUGH, P. J. *et al.* THE HUMAN MICROBIOME PROJECT. **Nature**. v. 449, n. 7164, p. 804-810, 2007.

UFC. Universidade Federal do Ceará. **Ambulatório do Adolescente da MEAC comemora 30 anos com mais de 44 mil atendimentos**. Universidade Federal do Ceará, 21 dez. 2017. Disponível em: <https://www.ufc.br/noticias/noticias-de->

2017/9444-ambulatorio-do-adolescente-da-meac-comemora-30-anos-com-mais-de-44-mil-atendimentos. Acesso em: 19 maio 2025.

UFC. Universidade Federal do Ceará. **Projeto Pele de Tilápia celebra 10 anos e UFC lança edital para empresas interessadas em produzir e comercializar produto.** UFC, Fortaleza, 22 jan. 2025. Disponível em: <https://www.ufc.br/noticias/19175-projeto-pele-de-tilapia-celebra-10-anos-e-ufc-lanca-edital-para-empresas-interessadas-em-produzir-e-comercializar-produto>. Acesso em: 18 maio 2025.

VALENTI, P. *et al.* Role of Lactobacilli and lactoferrin in the mucosal cervico vaginal defense. **Front Immunol.**, v. 9, p. 376, 2018.

VANEECHOUTTE, M. Lactobacillus iners, the unusual suspect. **Res Microbiol.**, v. 168, n. 9-10, p. 826-836, 2017.

VATSA, R. *et al.* Evaluation of amnion in creation of neovagina in women with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. **Fertil Steril.**, v. 108, n. 2, p. 341-345, 2017.

VENTER, J. C. *et al.* The sequence of the human genome. **Science**, v. 291, p.1304-1351, 2001.

WALKER, A. W.; HOYLES, L. Human microbiome myths and misconceptions. **Nat Microbiol.**, v. 8, n. 8, p. 1392-1396, 2023.

WALTMANN, A.; THOMAS, C.; DUNCAN, J. A. The role of the genital microbiota in the acquisition and pathogenesis of sexually transmitted infections. **Curr Opin Infect Dis.**, v. 36, n. 1, p. 35-48, 2023.

WANG, Z. *et al.* The role of reproductive tract microbiota in gynecological health and diseases. **J Reprod Immunol.**, v. 167, p. 104418, 2025.

WEIDLER, E. M. *et al.* Clinical management in mixed gonadal dysgenesis with chromosomal mosaicism: Considerations in newborns and adolescents. **Semin Pediatr Surg.**, v. 28, n. 5, p. 150841, 2019.

WICKHAM, H. **Pacote ggplot.** 2ª ad. 260p. 2016.

WILLEMSSEN, W. N.; KLUIVERS, K. B. Long-term results of vaginal construction with the use of Frank dilation and a peritoneal graft (Davydov procedure) in patients with

- Mayer-Rokitansky-Küster syndrome. **Fertil Steril.**, v. 103, n. 1, p. 220-207.e1, 2015.
- WINSTON, M. P. G. *et al.* The Vaginal Microbiome of Transgender and Gender Nonbinary Individuals. **Transgend Health.**, v. 9, n. 3, p. 205-11, 2024.
- WITCHEL, S.F. Disorders of sex development. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.**, v. 48, p. 90-102, 2018.
- WITKIN, S.S.; LINHARES, I.M.; GIRALDO, P. Bacterial flora of female genital tract: function and imune regulation. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.**, v. 21, n. 3, p.347-354, 2007.
- XIONG, W. *et al.* Tilápia introduction in China: Economic boom in aquaculture versus ecological threats to ecosystems. **Reviews in Aquacul.**, v. 15, n. 1, p. 179-197, 2023.
- YOUNES, J.A. *et al.* Women and their microbes: the unexpected friendship. **Trends Microbiol.**, v. 26, n. 1, p. 16-32, 2018.
- ZAMPIERI, M, E. **Pele de tilápia será produzida em escala comercial.** Vinhedo: Globo Rural, 19 jan. 2025. Disponível em: <https://globorural.globo.com/pecuaria/peixe/noticia/2025/01/pele-de-tilapia-sera-produzida-em-escala-comercial.ghtml>. Acesso em: 18 maio 2025.
- ZHANG, L. *et al.* Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. **Front Microbiol.**, v. n. 12, p. 766364, 2021.
- ZHENG, N. *et al.* Contribution of *Lactobacillus iners* to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review. **Front Cell Infect Microbiol.**, v. 22, n. 11, p. 792787, 2021.
- ZHOU, X. *et al.* Alterations in gut and genital microbiota associated with gynecological diseases: a systematic review and meta-analysis. **Reprod Biol Endocrinol.**, v. 22, n. 1, p. 13, 2024.
- ZHOU, X. *et al.* Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. **ISME J.**, v. 1, n. 2, p. 121-33, 2007.
- ZHU, L. *et al.* Anatomic and sexual outcomes after vaginoplasty using tissue-engineered biomaterial graft in patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser

syndrome: a new minimally invasive and effective surgery. **J. Sex. Med.**, v. 10, n. 6, p. 1652-1658, 2013.

APÊNDICE A- FORMULÁRIO COM DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS (Google Docs)

Microbioma Neovagina (Tese Muse)

Identificação

* Indica uma pergunta obrigatória

1. *

Exemplo: 7 de janeiro de 2019

2. Iniciais *

3. Prontuário *

4. Identificação Paciente- Coleta *

5. Idade (anos) *

6. Nº telefone

7. Naturalidade *

8. Procedência *

9. Data Cirurgia *

10. Tipo de Cirurgia *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Pele de tilápia
- ☐ Pele autóloga
- ☐ Outro: _____

11. Diagnóstico *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Síndrome de Rokitansky Tipo I Pular para a pergunta 13
- ☐ Síndrome de Rokitansky Tipo II Pular para a pergunta 13
- ☐ Outro Pular para a pergunta 12
- ☐ Sem diagnóstico Pular para a pergunta 13

Diagnóstico

12. Qual diagnóstico?

Aspectos Sociodemográficos

13. Estado civil *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Solteira
- ☐ Casada
- ☐ União estável
- ☐ Separada/ Divorciada
- ☐ Viúva

14. Raça (autodeclarada) *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Branca
- ☐ Preta
- ☐ Parda
- ☐ Indígena
- ☐ Amarela

15. Maior escolaridade (completa) *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Analfabeta
- ☐ Ensino fundamental
- ☐ Ensino médio
- ☐ Ensino superior
- ☐ Pós-graduação

16. Renda familiar em salários mínimos (salário mínimo de R\$ 1212,00) *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Menor que 1
- ☐ 1-5
- ☐ 5-10
- ☐ >10

17. Profissão *

História Ginecológica

18. Orientação sexual *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Heterossexual
- ☐ Homossexual
- ☐ Bissexual
- ☐ Transexual

19. Atividade sexual vaginal *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
- ☐ Não

20. Atividade sexual anal *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
- ☐ Não

21. Última atividade sexual *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Mais de 48 horas
☐ Menos de 48 horas
☐ Sem atividade sexual

22. Tem corrimento vaginal *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
☐ Não

23. Características do corrimento vaginal *

24. História de IST *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
☐ Não

25. Se sim, qual IST?

26. Vacinada contra HPV *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Não foi vacinada
☐ Uma dose
☐ Duas doses
☐ Três doses
☐ Recebeu a vacina, mas não sabe número de doses

Pular para a pergunta 27

Uso de antibiótico

27. Uso de antibiótico há menos de 90 dias

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
☐ Não Pular para a pergunta 32

Antibiótico

28. Qual antibiótico? *

29. Via de administração *

30. Duração do antibiótico (dias) *

31. Motivo do uso *

Hábitos ginecológicos

32. Uso de duchas vaginais *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim

☐ Não

33. Sangramento vaginal *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim

☐ Não

34. Em uso do molde *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim

☐ Não

35. Uso de cremes vaginais *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim *Pular para a pergunta 36*

☐ Não *Pular para a pergunta 38*

Uso de creme vaginal

36. Qual creme vaginal? *

37. Data da última aplicação do creme vaginal

Exemplo: 7 de janeiro de 2019

Uso de lubrificante

38. Uso de lubrificante *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim *Pular para a pergunta 39*

☐ Não *Pular para a pergunta 41*

Lubrificante

39. Qual lubrificante?

40. Data da última aplicação do lubrificante

Exemplo: 7 de janeiro de 2019

Doenças crônicas, hábitos e medicamentos

41. Hipertensão crônica *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim

☐ Não

42. Diabetes mellitus *

Marcar apenas uma oval.

☐ Sim

☐ Não

43. Outras doenças crônicas *

44. Tabagismo

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
☐ Não
☐ Ex-tabagista

45. Etilismo

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim
☐ Não

46. Faz uso de alguma medicação? *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Sim *Pular para a pergunta 47*
☐ Não *Pular para a pergunta 48*

Medicamentos em uso

47. Quais medicamentos usa?

Exame físico

48. Peso (kg)

49. Altura (centímetros)

50. Comprimento vaginal (centímetros)

51. Conteúdo vaginal (descrição) *

52. Outros achados

Exames complementares

53. Cariótipo

Marcar apenas uma oval.☐ Sim☐ Não

54. Histopatológico

Marcar apenas uma oval.☐ Sim☐ Não

55. Bacterioscopia

Marcar apenas uma oval.☐ Sim☐ Não

APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO –TCLE

TÍTULO DO ESTUDO: DESCRIÇÃO DO MICROBIOMA DE NEOVAGINA CONSTRUÍDA COM PELE DE TILÁPIA

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA/ LEONARDO ROBSON PINHEIRO SOBREIRA BEZERRA/ LAURO VIEIRA PERDIGÃO NETO/ SILVIA FIGUEIREDO COSTA.

INSTITUIÇÃO: MATERNIDADE-ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND (MEAC-UFC)

TELEFONE PARA CONTATO: (85)3366.8506

EMAIL: muse_santiago@yahoo.com.br

LOCAL DE COLETA DE DADOS: AMBULATÓRIO DE DIFERENÇAS NO DESENVOLVIMENTO SEXUAL (DDS)

Prezada Senhora,

Você está sendo convidada a participar de um estudo de forma esclarecida, respondendo perguntas e dando sua opinião/percepção de forma totalmente voluntária.

Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento.

Os pesquisadores deverão responder às suas dúvidas antes de você decidir participar.

Você tem o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade.

Objetivo do estudo: descrever o microbioma vaginal de pacientes submetidas à neovaginoplastia com pele de Tilápia e com pele autóloga.

Procedimentos: Participando do estudo, você está sendo convidada a submeter-se à coleta de conteúdo vaginal e de canal anal, que será realizada em consulta de rotina no ambulatório, durante o exame físico e ginecológico habitual.

Benefícios: sua participação no estudo permitirá que sejam descritos os tipos mais comuns de bactérias que habitam a vagina, após o procedimento cirúrgico que você realizou, possibilitando a investigação de algumas infecções genitais, infecções sexualmente transmissíveis e outras alterações do exame de prevenção, possibilitando o conhecimento e tratamento ou controle destas condições.

Riscos: os riscos relacionados com sua participação são o desconforto da coleta da amostra do conteúdo vaginal e de canal anal, sendo o incômodo semelhante ao observado durante o exame ginecológico de rotina. O risco de perda de confidencialidade será minimizado através de alocação do material obtido sob responsabilidade dos pesquisadores, em local protegido. As participantes não serão identificadas em momento algum.

Privacidade: Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo seu nome não será citado.

Acompanhamento e assistência: As pacientes serão liberadas após realização da consulta de rotina e exame físico e ginecológico.

Ressarcimento: O estudo será feito durante a consulta de rotina da participante, como consulta médica na maternidade citada, durante horário de trabalho da equipe de saúde.

Este termo de consentimento está sendo elaborado em duas vias, sendo uma para a participante da pesquisa e outra para o arquivo dos pesquisadores.

Em caso de dúvidas, você poderá procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola, que se encontra disponível para reclamações pertinentes à pesquisa pelo telefone 3366.8569 ou no endereço Rua coronel Nunes de Melo S/N Rodolfo Teófilo – CEP 60430-270.

Ciente e de acordo com o que foi anteriormente exposto, eu _____, RG _____, concordo em participar desta pesquisa, assinando este consentimento em duas vias e ficando com a posse de uma delas.

Fortaleza, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do sujeito da pesquisa - Número da identidade

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa e/ou representante legal para a participação neste estudo.

Fortaleza, de _____ de 20 ____.

Assinatura do responsável pela pesquisa

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter sido esclarecimento sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante:

Assinatura do(a) participante ou nome e assinatura do(a) responsável

Data: ____/____/____

APÊNDICE C – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS**QUESTIONÁRIO****A - PERFIL DO ENTREVISTADO****1 Cargo:**

() Servidor () Bolsista () Estagiário () Terceirizado

Divisão/Unidade em que trabalha: _____

2 Faixa Etária:

() Até 19 anos () 25 – 29 anos () 35 – 39 anos () 45 – 49 anos

() 20 – 24 anos () 30 – 34 anos () 40 – 44 anos ()

Acima de 50 anos

3 Sexo:

() Feminino () Masculino

4 Há quanto tempo trabalha na instituição?

() Há menos de 1 ano () Entre 5 e 9 anos () Entre 15 e 19 anos

() Entre 1 e 4 anos () Entre 10 e 14 anos () Há mais de 20 anos

5 Nível de escolaridade:

() Fundamental () Médio () Técnico

() Graduação () Graduação em andamento Curso: _____

() Especialização () Especialização em andamento

() Mestrado () Mestrado em andamento Área: _____

() Doutorado () Doutorado em andamento Área: _____

ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIANDO DO CEP

UFC - MATERNIDADE ESCOLA
ASSIS CHATEAUBRIAND DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ / MEAC - UFC



PARECER CONSUBSTANCIANDO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESCRIÇÃO DO MICROBIOMA DE NEOVAGINA CONSTRUÍDA COM PELE DE TILÁPIA

Pesquisador: MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 58685022.1.0000.5050

Instituição Proponente: Maternidade Escola Assis Chateaubriand / MEAC/ UFC

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.417.913

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "apresentação do projeto", "Objetivos da Pesquisa" e Avaliação de Riscos e Benefícios foram retiradas do arquivo PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1936152.pdf. O Microbioma Humano Estima-se que o corpo humano seja habitado por pelo menos dez vezes mais bactérias do que o número de células nele presentes. No entanto, durante a história da microbiologia, a maior parte dos estudos teve como objetivo associar estes organismos a doenças, sendo relativamente poucos os trabalhos que avaliaram os benefícios das bactérias residentes no corpo humano (PETERSON et al., 2009; FRANASIAK et al., 2015). Foi lançado em 2007 pelo National

Institutes of Health (NIH), possibilitando estudos metagenômicos que permitiram a caracterização do microbioma de diversos sítios do corpo humano (PETERSON et al., 2009). Desta forma, a população bacteriana vaginal foi caracterizada e áreas previamente consideradas estéreis, como a cavidade uterina e a placenta, também evidenciaram um microbioma próprio (FRANASIAK et al., 2017; MORENO et al., 2017; CHEN et al., 2017). O estudo tem como objetivo principal: Descrever o microbioma vaginal de pacientes submetidas a neovaginoplastia com pele de tilápia. Hipótese de que o microbioma vaginal de mulheres com vagina construída com pele de tilápia adquire semelhanças ao microbioma vaginal normal. Serão critérios de inclusão: Pacientes submetidas à cirurgia de neovaginoplastia com pele de tilápia do Nilo ou com enxerto de pele autóloga, na

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8569 Fax: (85)3366-8528 E-mail: cepmeac@gmail.com

**UFC - MATERNIDADE ESCOLA
ASSIS CHATEAUBRIAND DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ / MEAC - UFC**



Continuação do Parecer: 5.417.913

Maternidade-Escola Assis Chateaubriand em Fortaleza, Ceará. Uma amostra do conteúdo vaginal será colhida durante o exame ginecológico realizado no ambulatório de DDS da MEAC, em consulta ginecológica de rotina, com a paciente em posição de litotomia, através da realização de exame especular, sem utilização de lubrificante ou solução salina no

espéculo para não comprometer a qualidade do material.

Serão coletadas 3 amostras de conteúdo vaginal, obtidas da parede vaginal lateral e 3 amostras de fezes colhidas do canal anal, utilizando-se swab

de haste plástica, sendo o material armazenado em tubo estéril sem meio de cultura (swab seco).

Após a coleta, os tubos serão imediatamente conduzidos ao freezer de ultrabaixa temperatura (-80° C) localizado no NPDM para armazenamento.

As amostras serão enviadas, através de transporte aéreo, devidamente acondicionadas, para o Laboratório de Investigação Médica 49 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), para posterior sequenciamento. Serão coletadas amostras de 100 mulheres. As amostras serão coletas com 1 mês, 6 meses, 1 ano e 2 anos após a cirurgia.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Descrever o microbioma vaginal de pacientes submetidas a neovaginoplastia com pele de tilápia liofilizada.

Específico:

Comparar os padrões de microbioma de neovagina determinados pelo estudo, com o microbioma vaginal descrito pela literatura;

Comparar o microbioma de neovagina de pele de tilápia com o microbioma de neovagina feita com enxerto de pele;

Avaliar a presença de possíveis patógenos causadores de vulvovaginites e/ou infecções sexualmente transmissíveis (IST) no microbioma de neovaginas com pele de tilápiailiofilizada;

Estudar a possível determinação do microbioma de neovagina de pele de tilápia liofilizada com o microbioma de trato gastrointestinal;

Descrever a dinâmica do microbioma no pós-operatório imediato e tardio de neovaginoplastia com pele de tilápia liofilizada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relacionados com a pesquisa são o desconforto na coleta da amostra do conteúdo

Endereço: Rua Cel Nunes da Melo, s/n	CEP: 60.430-270
Bairro: Rodolfo Teófilo	
UF: CE	Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8569	Fax: (85)3366-8528
E-mail: cepmeac@gmail.com	

**UFC - MATERNIDADE ESCOLA
ASSIS CHATEAUBRIAND DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ / MEAC - UFC**



Continuação do Parecer: 5.417.913

vaginal e de canal anal, sendo o incômodo semelhante ao observado durante o exame ginecológico de rotina. O risco de perda de confidencialidade será minimizado através de alocação do material obtido sob responsabilidade dos pesquisadores, em local protegido. As participantes não serão identificadas em momento algum.

Com relação aos benefícios, o estudo permitirá que sejam descritos os tipos mais comuns de bactérias que habitam a neovagina construída com pele de tilápia, possibilitando a investigação de algumas vulvovaginites, infecções sexualmente transmissíveis ou outras alterações, possibilitando o conhecimento, tratamento ou controle destas condições.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo Nacional e Unicêntrico, Transversal, porém com um corte retrospectivo (pacientes com cirurgia de neovagina com enxerto autólogo). De caráter acadêmico para obtenção do título de Doutor em cirurgia pela Universidade Federal do Ceará. Após a coleta, os tubos serão imediatamente conduzidos ao freezer de ultrabaixa temperatura (-80° C) localizado no NPDM para armazenamento.

As amostras serão enviadas, através de transporte aéreo, devidamente acondicionadas, para o Laboratório de Investigação Médica 49 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), para posterior sequenciamento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem Pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, por meio do tipo "Relatório" para que sejam devidamente apreciadas no CEP, conforme Norma Operacional CNS nº 001/13, Item XI.2.d.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8529 Fax: (85)3366-8528 E-mail: cepmeac@gmail.com

**UFC - MATERNIDADE ESCOLA
ASSIS CHATEAUBRIAND DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ / MEAC - UFC**



Continuação do Parecer: 5.417.913

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES BÁSICAS_DO_P ROJETO_1936152.pdf	13/05/2022 10:26:24		Aceito
Outros	Termo.pdf	13/05/2022 10:22:19	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	13/05/2022 10:21:56	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termuse.pdf	13/05/2022 10:19:29	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	autores.pdf	13/05/2022 10:18:25	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuendianPDM.pdf	13/05/2022 10:18:17	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cienciaMuse.pdf	13/05/2022 10:18:09	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuendiagasmuse.pdf	13/05/2022 10:17:59	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuendiahc.pdf	13/05/2022 10:17:50	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	13/05/2022 10:11:14	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Muse.pdf	13/05/2022 10:11:03	MUSE SANTIAGO DE OLIVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 19 de Maio de 2022

Assinado por:
Allisson Menezes Araújo Lima
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel Nunes de Melo, s/n
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8569 Fax: (85)3366-8528 E-mail: cepmeac@gmail.com