



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROFISSIONAL EM SAÚDE DA MULHER E  
DA CRIANÇA**

**Cristiana Rodrigues Teófilo**

**NEOVAGINOPLASTIA COM PELE DE TILÁPIA: AVALIAÇÃO CITOLÓGICA E  
BACTERIOSCÓPICA**

**FORTALEZA**

**2022**

**Cristiana Rodrigues Teófilo**

**NEOVAGINOPLASTIA COM PELE DE TILÁPIA: AVALIAÇÃO CITOLÓGICA E  
BACTERIOSCÓPICA**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Saúde da Mulher e da Criança da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher e da Criança

Área de concentração: Saúde da Mulher

Orientador: Prof. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira  
Bezerra

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

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

---

- T29n Teófilo, Cristiana Rodrigues.  
Neovaginoplastia com pele de tilápia : avaliação citológica e bacterioscópica / Cristiana Rodrigues Teófilo. – 2022.  
66 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional em Saúde da Mulher e da Criança, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto.  
Coorientação: Prof. Dr. Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra.
1. vagina. 2. tilápia. 3. microbiota. 4. teste de Papanicolaou. I. Título.

CDD 610

---

**Cristiana Rodrigues Teófilo**

**NEOVAGINOPLASTIA COM PELE DE TILÁPIA: AVALIAÇÃO CITOLÓGICA E  
BACTERIOSCÓPICA**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Saúde da Mulher e da Criança da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher e da Criança

Área de concentração: Saúde da Mulher

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Raquel Autran Coelho Peixoto – orientadora  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

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

---

Profa. Dra. Zenilda Vieira Bruno  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Renata Eleutério  
Unichristus

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, VERÔNICA BARBOSA RODRIGUES TEÓFILO, por me ensinar o caminho do estudo e da bondade, persistindo em busca dos sonhos, não importando o tamanho do caminho a ser percorrido.

Aos meus irmãos, CAROLINA RODRIGUES TEÓFILO e LEONARDO RODRIGUES TEÓFILO, sempre me incentivando em continuar buscando os meus sonhos através do esforço e dedicação.

Ao meu pai, FRANCISCO EDSON TEÓFILO FILHO, exemplo de dedicação ao trabalho e ao estudo.

A minha orientadora, Profa. Dra. RAQUEL AUTRAN COELHO PEIXOTO, por ser inspiração profissional, além de ser guia do início ao fim dessa trajetória, mostrando-se disponível a todo instante e incentivando constantemente.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. LEONARDO ROBSON PINHEIRO SOBREIRA BEZERRA, fonte inesgotável de saber e incentivo ao conhecimento, à pesquisa, pela sua disponibilidade.

Aos membros da banca de defesa, Dra. ZENILDA VIEIRA BRUNO e Dra. RENATA ELEUTÉRIO, pelos conhecimentos repassados, pelo incentivo e pelas sugestões para a melhoria desse estudo.

A Universidade Federal do Ceará e a CAPES, por serem espaços fundamentais de fomento e de estímulo à pesquisa para melhoria da saúde.

## SIGLAS

ASC-US: Atipias de células escamosas de significado indeterminado

CSTs: Community State Types

HIV: Vírus da imunodeficiência humana

HPV: Papiloma Vírus Humano

INCA: Instituto Nacional de Câncer

ISTs: Infecções sexualmente transmissíveis

LABPEC: Laboratório Professor Eleutério da Costa

MEAC: Maternidade Escola Assis Chateaubriand

NCI: National Cancer Institute

OMS: Organização Mundial da Saúde

PTN: pele de Tilápia do Nilo

SMRKH: Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser

VB: Vaginose bacteriana

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar achados de citologia e de microbiota vaginal de pacientes com Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser submetidas a cirurgia de neovaginoplastia utilizando pele de tilápia do Nilo. **Métodos:** Estudo descritivo transversal sendo realizada coleta de conteúdo vaginal de mulheres com Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser submetidas à neovaginoplastia com pele de tilápia do Nilo. Foram realizadas citologia oncótica convencional, citologia hormonal e bacterioscopia por Gram, além de colposcopia, entre 12 e 24 meses após realização da nova técnica cirúrgica, entre os anos de 2019 e 2021. Realizou-se o cálculo do escore de Nugent. Os dados foram categorizados no Microsoft Excel para análise estatística descritiva das variáveis estudadas. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da instituição. **Resultados:** Foram encontradas células escamosas sem atipias nas 7 pacientes. Cinco pacientes apresentaram microbiota vaginal intermediária, com escore de Nugent 4, determinada pela presença de poucos lactobacilos na coloração de Gram. Na avaliação da citologia hormonal, quatro pacientes apresentaram classificação compatível com o menacme. Não se observaram alterações colposcópicas. O comprimento vaginal total permaneceu maior que 6 centímetros após 12 meses de seguimento quando realizada a dilatação correta no pós-cirúrgico. **Conclusões:** Houve presença de células escamosas sem atipias nas neovaginas com pele de tilápia do Nilo. A maioria dos conteúdos vaginais demonstrou microbiota intermediária, com resultado hormonal compatível com o menacme. São necessários estudos com maior número de pacientes para um conhecimento mais abrangente sobre o microbioma na neovagina com PTN, assim possibilitando respaldo para tratamento e prevenção de patologias associadas.

Palavras-chave: Vagina. Tilápia. Microbiota. Teste de Papanicolaou.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the cytology and vaginal microbiota findings of patients with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome undergoing neovaginoplasty surgery using Nile tilapia skin. **Methods:** Descriptive cross-sectional study in which vaginal content was collected from women with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome undergoing neovaginoplasty with Nile tiapia skin. Conventional oncotic cytology, hormonal cytology and Gram bacterioscopy were performed, in addition to colposcopy, between 12 and 24 months after performing the new surgical technique, between 2019 and 2021. The Nugent score was calculated. Data were categorized in Microsoft Excel for descriptive statistical analysis of the variables studied. The project was approved by the Ethics and Research Committee of the institution. **Results:** Squamous cells without atypia were found in the 7 patients. Five patients had an intermediate vaginal microbiota, with a Nugent score of 4, determined by the presence of few lactobacilli on Gram stain. In the evaluation of hormonal cytology, four patients presented a classification compatible with menacme. No colposcopic changes were observed. Total vaginal length remained greater than 6 centimeters after 12 months of follow-up when correct post-surgical dilatation was performed. **Conclusions:** There was the presence of squamous cells without atypia in the neovaginas with Nile tilapia skin. Most of the vaginal contents showed intermediate microbiota, with hormonal results compatible with menacme. Studies with a greater number of patients are necessary for a more comprehensive knowledge about the microbiome in the neovagina with NTFS, thus enabling support for the treatment and prevention of associated pathologies

Keywords: Vagina. Tilapia. Microbiota. Pap smear test.

## Sumário

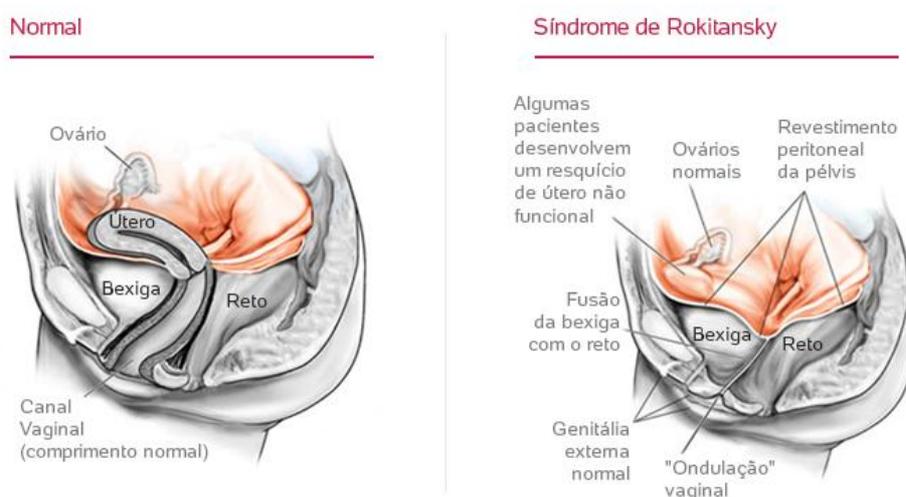
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>7</b>
<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>24</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
Objetivo geral .....	25
Objetivos específicos.....	25
<b>CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
Local do estudo .....	26
População .....	26
Anamnese e Exame físico .....	26
Citologia, Bacterioscopia e citologia hormonal.....	27
Análise estatística.....	28
Aspectos Éticos .....	28
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>29</b>
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>44</b>
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	44
Ficha de coleta de dados .....	46
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>53</b>
ANEXO 1 .....	53
ANEXO 2 .....	56

## INTRODUÇÃO

A agenesia vaginal, ausência parcial ou total da vagina, pode apresentar-se por diferentes situações, como anomalias congênitas, podendo ser uma má formação isolada ou podendo fazer parte de distúrbio específico, como na Síndrome da Insensibilidade Androgênica ou na Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (SMRKH).

A SMRKH ou agenesia mülleriana caracteriza-se por agenesia uterina congênita e dos 2/3 superiores da vagina (FIGURA 1). Apresenta-se com o genótipo feminino (46,XX) e desenvolvimento de caracteres sexuais secundários normais (HERLIN; PETERSEN; BRÄNNSTRÖM, 2020). Esta patologia acomete 1 a cada 4500-5000 mulheres no mundo. Muitas vezes, é diagnosticada após investigação clínica por amenorreia primária (ausência da menarca - a primeira menstruação), por distúrbios do crescimento ou do desenvolvimento puberal e, mais raramente, por infertilidade. Além disso, há, possivelmente, um importante comprometimento da vida sexual, devido a vagina curta ou ausente, podendo dificultar a atividade sexual com penetração o (HERLIN; PETERSEN; BRÄNNSTRÖM, 2020) .

Figura 1: Ilustração das alterações morfológicas no trato genital de mulheres com Síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser.



A agenesia mülleriana decorre do subdesenvolvimento embriológico do ducto mülleriano, que gera agenesia de vagina, útero ou ambos. O canal vaginal é encurtado de forma importante e pode aparecer como uma depressão abaixo da uretra, além de poder apresentar um útero remanescente com ou sem cavidade endometrial. Os ovários são de origem embrionária distinta, portanto apresentam-se normais estruturalmente e funcionalmente, mas poderão ser encontrados em localização atípica pela ausência de útero (MCQUILLAN; GROVER, 2014).

Apesar da agenesia vaginal envolver implicações psicológicas, as alterações fisiológicas são tratáveis com correções que podem ser cirúrgicas ou conservadoras. Independentemente do método escolhido, a correção poderá levar a uma função sexual normal (CAO *et al.*, 2013; MCQUILLAN; GROVER, 2014).

Além da agenesia vaginal congênita, outras situações também podem causar ausência ou encurtamento vaginal, como radioterapia e cirurgia após câncer de vagina. (MCQUILLAN; GROVER, 2014) Junta-se a estes casos com necessidade de criação de nova vagina, os casos de pacientes em processo de redesignação sexual, quando o enxerto de pele retirado do pênis pode ser insuficiente, necessitando muitas vezes retirar enxerto na bolsa escrotal (RODRÍGUEZ *et al.*, 2020).

## TÉCNICAS DE NEOVAGINOPLASTIA

Existem diferentes métodos descritos para construir uma nova vagina funcional. A primeira descrição de cirurgia de neovagina data de 460-377 aC, por Hipócrates. Após 1898, no entanto, Abbe descreveu pela primeira vez o uso de molde subsequente a abertura cirúrgica de espaço em região perineal para manter a nova vagina patente para atividade sexual. Descrições de métodos conservadores e cirúrgicos para neovagina foram realizadas no século XX, como dilatação de Frank e as técnicas cirúrgicas de Baldwin e McIndoe. Ao longo dos anos, os métodos tradicionais deram lugar a técnicas modificadas, como a de Sheares que alterou a técnica de McIndoe, e Creats, que transformou a vaginoplastia de Williams. Novos métodos foram criados, como o de Vecchietti e o uso de retalhos de cirurgia plástica (MCQUILLAN; GROVER, 2014).

Em 1938, Frank publicou os primeiros resultados utilizando dilatadores vaginais exercícios diários com um molde rígido para pressionar a mucosa do vestibulo, levando à distensão progressiva da cavidade vaginal. (FRANK, 1938). Desde então, vários estudos têm demonstrado que é possível obter uma vagina funcional e adequada para o coito em 77 a 93% dos casos utilizando os exercícios de Frank ou suas variáveis (HENSLE; REILEY, 1998; ROBERTS; HABER; ROCK, 2001) Nesse contexto, os dilatadores mostram-se interessantes como primeira opção de tratamento da agenesia vaginal, principalmente para pacientes sem possibilidade de gestação natural (agenesia ou hipoplasia uterina) e portadoras de comorbidades que contraindiquem procedimentos cirúrgicos. (ACOG, 2006)

A paciente é estimulada a realizar de 15 a 20 repetições desses exercícios diariamente, utilizando um molde rígido de PVC, que mede no máximo 12 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro. O molde deve ser pressionado até gerar desconforto, mas sem provocar dor. Posteriormente, os moldes devem ser trocados por outros com diâmetros maiores (2,0; 2,5 e 3,0 cm). Também podem ser utilizados moldes penianos, encontrados em sex shops. (REIS, 2012)

O tratamento cirúrgico da agenesia vaginal (ou neovaginoplastia), associada ou não a outras malformações canaliculares do trato genital feminino, é indicado sempre que há impossibilidade de se obter a neovagina pela técnica não invasiva, seja por tentativas frustradas, pelo desejo da paciente ou pela intenção de unir a cavidade vaginal neoformada a um útero existente. (REIS, 2012)

As primeiras considerações sobre a correção cirúrgica da agenesia vaginal foram feitas por Dupuytren, em 1817 (GOLDWYN, 1977). Em 1938, McIndoe e Bannister descreveram o procedimento no qual se baseia a maioria das técnicas de neovaginoplastia atualmente empregadas (MCINDOE; BANISTER, 1938). O objetivo comum é delinear a cavidade vaginal no espaço obtido entre a bexiga e o reto, utilizando material que estimule a epitelização adequada, com o intuito de se construir uma neovagina funcional, ou seja, que permita o coito e, na presença de útero normal, a concepção natural.

A proposta inicial de McIndoe e Bannister preconizava a utilização de enxerto cutâneo abdominal para revestimento da neovagina, mas a experiência ao longo

dos anos associou a técnica clássica a implicações estéticas das cicatrizes deixadas no sítio doador e à incidência elevada de infecção e necrose do enxerto (MOURA *et al.*, 1994; SÁ *et al.*, 1986). Assim, atualmente são utilizados vários materiais para construção da neovagina, geralmente com resultados animadores: peritônio pélvico (DAVYDOV; ZHVITIASHVILILE, 1974; OZEK *et al.*, 1999; WEBHA S, CARVALHO CRN, FERREIRA JAS, 1978), segmentos de alça intestinal (BÜRGER *et al.*, 1989) enxertos de pele abdominal total (FERREIRA, 2003) retalho miocutâneo do sítio grácil (TOSUN *et al.*, 2004) e derivados sintéticos da celulose (MOTOYAMA *et al.*, 2003).

A utilização do âmnio humano como enxerto neovaginal foi primeiramente descrita por Vidakovic, em 1930, (PIAZZA, 1999) e popularizada por Brindeau, em 1934 (BRINDEAU A., 1934). Nas últimas décadas, tem sido aplicada na modificação da técnica de McIndoe-Bannister, com bons resultados (CARVALHO *et al.*, 2007; MORTON; DEWHURST, 1986; MOURA *et al.*, 1994; TRELFOURD; HANSON; ANDERSON, 1973). Inúmeras características do epitélio amniótico permitem a obtenção de uma cavidade funcionalmente semelhante à vagina normal, como suas propriedades antibacterianas e angiogênicas, a falta de expressão de antígenos de histocompatibilidade e o fornecimento de suporte adequado para o deslizamento do epitélio do introito sobre o túnel neoformado. (DAVYDOV; ZHVITIASHVILILE, 1974). Ainda, a habilidade do âmnio de sofrer metaplasia escamosa permite a obtenção de mucosa muito semelhante histologicamente à encontrada em vaginas normais (BLEGGI-TORRES; WERNER; PIAZZA, 1997; CARVALHO *et al.*, 2007; PIAZZA, 1999). Além disso, essa técnica apresenta fácil manuseio, tempo reduzido de cirurgia e internação e baixa incidência de dor pós-operatória.

Recentemente, temos aplicado nova modificação à técnica de McIndoe-Bannister, utilizando moldes de látex, introduzidos no túnel confeccionado sem qualquer enxerto o recobrindo. O interesse inicial pelo látex como material biossintético partiu do bom desempenho observado em próteses esofágicas (MRUÉ, 1996) e na substituição pericárdica (SADER *et al.*, 2000). Os resultados pós-operatórios do uso em neovaginoplastias demonstram que o látex estimula a epitelização vaginal de forma a se obter neovaginas de aspecto clinicamente semelhante ao obtido com a membrana amniótica, em períodos similares de

observação e com a vantagem de não oferecer os riscos potenciais dos enxertos de doadoras, principalmente os relativos a infecções.

Um dos procedimentos cirúrgicos mais populares para correção do comprimento vaginal ainda é, no entanto, o procedimento de McIndoe. Devido à etapa de coleta de enxerto abdominal, o tempo cirúrgico é importantemente prolongado. Além disso, requer cicatriz abdominal, com maior risco de infecção e, possivelmente, maior dor no pós-operatório. Outro ponto que deve ser considerado perpassa pelas características do tecido abdominal enxertado com presença de folículos pilosos e, com isso, a possibilidade de crescimento de pelos na nova vagina construída cirurgicamente (DIAS *et al.*, 2020; HERLIN; PETERSEN; BRÄNNSTRÖM, 2020) (DIAS *et al.*, 2020).

Quadro 1: Técnicas de vaginoplastia

Descrição de técnicas de Vaginoplastia		
<u>Técnica</u>	<u>Definição</u>	<u>Outras nomenclaturas</u>
<b>Dilatação</b>	Pressão manual intermitente do períneo para gradualmente criar um canal vaginal	Método de Frank's , Ingram's Bicycle, D'Alborton (coitus)
<b>Vecchiatti's</b>	Tração cirúrgica ascendente ao longo do períneo com o uso de um objeto	Técnica de Vecchiatti modificada
<b>Davydov's</b>	Uso de peritônio para revestir a vagina	-
<b>Modificação de Sheare's da vaginoplastia de William's</b>	Dissecção romba para criar uma bolsa vulvovaginal	Método de Creatsas', Wharton

<b>Retalho de espessura total</b>	Rotação ou inserção de um retalho colhido em uma abertura vaginal dissecada	Singapore, Malaga, Labia
<b>Retalho de espessura parcial</b>	Inserção de um retalho de espessura parcial colhido em uma abertura vaginal dissecada	Abbe–McIndoe, celulose, mucosa buccal, membrana amniótica
<b>Intestino</b>	Retirada da mucosa intestinal para transplante em uma abertura vaginal criada	Jejuno, íleo, ceco, sigmoide

\* quadro adaptado de (MCQUILLAN; GROVER, 2014)

## USO DE PELE DE TILÁPIA DO NILO (PTN)

Considerando todos esses fatores, viu-se a necessidade de estudar novo material custo-efetivo, isto é, com aplicabilidade médica, fácil acesso e baixo custo. A pele de Tilápia do Nilo (PTN) apresenta uma microbiota não infecciosa, além de histologia semelhante a pele humana, tendo mostrado bons resultados em alguns estudos que a utilizaram para pacientes queimados (crianças e adultos) (DIAS *et al.*, 2020; TORRES *et al.*, 2022).

Um ensaio clínico randomizado de fase II (LIMA JÚNIOR *et al.*, 2020) utilizou a PTN em pacientes queimados de 18 a 50 anos de idade, em centro de referência do Estado do Ceará, entre 2016 e 2017, excluindo-se os pacientes com comorbidades com possibilidade de interferir nos resultados. A pele de tilápia foi aplicada nas lesões após remoção de tecido desvitalizado e debris, sendo coberta com gaze e bandagem. Ao longo do estudo, a cobertura com pele de tilápia apenas foi removida quando identificada aderência inadequada aos tecidos do paciente. Os desfechos principais avaliados foram tempo para reepitelização completa, dor ao longo do tratamento e o uso de anestésicos. Neste estudo, foi encontrada diminuição de dias para completa reepitelização, comparando o uso de pele de tilápia com tratamento usual com sulfadiazina de prata creme. Além disso, ao longo do tratamento, foi identificada menor dor pelos pacientes do grupo teste comparado

ao grupo controle, além de menores doses de uso de analgésicos (LIMA JÚNIOR *et al.*, 2020).

Após a utilização da pele de tilápia em pacientes grandes queimados com bons resultados, surgiu o interesse em utilizá-la na cirurgia para construção de neovagina, diminuindo o tempo de cirurgia e a morbidade pós-operatória, pois essa nova técnica utiliza apenas o tempo vaginal, não necessitando de enxerto abdominal e, portanto, não deixando cicatriz. Além disso, a pele de tilápia é bastante disponível na natureza e apresenta baixo custo (DIAS; BILHAR; *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020).

DIAS *et al.* (2019) descreveram, inicialmente, a neovaginoplastia com PTN em paciente com estenose vaginal após tratamento de câncer de vagina e, também, em paciente com síndrome de SMRKH, com bons resultados (DIAS; BILHAR; *et al.*, 2019; DIAS; LIMA JÚNIOR; *et al.*, 2019). SLONGO *et al.* (2020) descreveram a nova técnica de neovagina em pacientes submetidos a cirurgia de redesignação sexual (SLONGO *et al.*, 2020). Torres *et al.* (2022) descreveram uma série de onze casos com pacientes com síndrome de SMRKH submetidas a cirurgia de neovagina com PTN (TORRES *et al.*, 2022).

O peixe Tilápia utilizado nesses estudos foi proveniente da cidade de Jaguaribara no estado do Ceará, criado em pisciculturas do açude Castanhão. A pele da Tilápia é retirada e lavada com água corrente de torneira para remover resíduos e impurezas. Depois disso, coloca-se a pele em recipientes de mesma temperatura para envio para o laboratório, onde destaca-se a pele do músculo e são feitos cortes de aproximadamente 10,0 x 5,0 cm. Em seguida, essas amostras são lavadas com salina 0,9% e armazenadas em estrutura estéril com gluconato de clorexidina 2% durante 60 minutos. Terminado este processo, o material é lavado com soro fisiológico 0,9% estéril e colocado em recipiente estéril com glicerol 75% e soro fisiológico 25% por mais 60 minutos. Na sequência, a pele é novamente enxaguada com soro fisiológico a 0,9% estéril e retorna ao glicerol, mas desta vez a 100% massageada por 5 min. Posteriormente, a pele é levada em banho-maria por 3 horas, ainda em solução de glicerol, em centrifuga a 37°C e 15 RPM. Finalmente, envolve-se a pele com plástico duplamente lacrados, sendo refrigerada a 4°C, podendo ser armazenada por até 2 anos. A esterilização é finalizada com irradiação

gama em irradiador multiuso de cobalto 60 a 30 kGy (COSTA *et al.*, 2019; TORRES *et al.*, 2022).

Utilizou-se uma unidade da PTN medindo 5.1 X 7.6cm<sup>2</sup> para cada paciente submetida a cirurgia de neovaginoplastia, sendo esse o revestimento da parede de neovagina. A pele foi disposta a envolver um molde de acrílico cilíndrico com medidas de 9cm de comprimento e 3cm de diâmetro e fixada com Vicryl 3-0 em pontos simples (FIGURAS 2 A 9)

Figura 2 e 3: Pele de tilápia e molde de acrílico



Figura 4 e 5: Pele de tilápia acomodada em molde de acrílico com sutura com fio vicryl



Figura 6 e 7: Ajustes de pele de tilápia ao tamanho do molde



Figura 8 e 9: Pele de tilápia envolvendo molde de acrílico



Um estudo demonstrou que a histologia da pele de tilápia mostrou densa camada de tecido conjuntivo fibroso, similar a histologia da pele humana. Devido a estas características, a utilização deste material como enxerto após processos de esterilização química e irradiação pode ser possível tendo função de barreira antibacteriana, diminuição de perda de fluidos e proteínas, por exemplo (ALVES *et al.*, 2018). Foi avaliada ainda a manutenção das propriedades do tecido após os processos de esterilização, confirmando-a através de avaliação microscopia e tensiométrica (ALVES *et al.*, 2018).

#### MICROBIOTA VAGINAL

O termo microbiota refere-se aos microrganismos que vivem no interior e na superfície do corpo humano, enquanto microbioma refere-se ao genoma dessa comunidade (KALIA; SINGH; KAUR, 2020). Os componentes da microbiota normalmente se beneficiam do hospedeiro, mas podem habitar o corpo humano em

uma relação de comensalismo, mutualismo ou patogenicidade, interferindo assim na função, na imunidade e na nutrição do hospedeiro (KALIA; SINGH; KAUR, 2020).

A microbiota vaginal humana com predomínio de lactobacilos é essencial para um meio saudável, porém comunidades de bactéria vivem em mutualismo no corpo humano, muitas vezes protegendo-o contra bactérias patogênicas. As espécies de lactobacilos mais comumente encontradas na vagina são *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners* e o *Lactobacillus jensenii*, em distintas comunidades de microorganismos vaginais identificadas através de sequenciamento molecular (DATCU *et al.*, 2013; JENG *et al.*, 2020; KALIA; SINGH; KAUR, 2020; MASHA *et al.*, 2020; RAVEL *et al.*, 2011).

Masha et al. (2020) destacam que estudos recentes sugerem que microbiota vaginal com alta diversidade, sem predominância de lactobacilos, está associada a aumento de inflamação, principalmente com ativação de células T CD4+ na mucosa. Além disso, as evidências apontam para o fato de que baixos níveis de inflamação em microbiota com pouca diversidade e lactobacilos predominando parece ser protetora para infecções, enquanto microbiota vaginal com alta diversidade, sem lactobacilos dominantes – disbiose – parece apresentar maior risco de infecções e de complicações obstétricas (MASHA *et al.*, 2020). As propriedades benéficas dos *Lactobacillus* spp., além do ácido lático, decorrem da produção de bacteriocinas, aderência ao epitélio das paredes vaginais (exclusão competitiva com outras bactérias) e a habilidade de usar os nutrientes disponíveis competitivamente. (BRESHEARS *et al.*, 2015; TACHEDJIAN; O'HANLON; RAVEL, 2018)

Um estudo publicado em 2011 por Ravel et al. delineou as comunidades de microrganismos vaginais em mulheres em idade reprodutiva nos Estados Unidos através de sequenciamento molecular, descrevendo 5 tipos de comunidades, as “Community State Types” (DATCU *et al.*, 2013; MASHA *et al.*, 2020; RAVEL *et al.*, 2011).

A composição da microbiota vaginal, com sua predominante espécie de bactéria na mulher em idade reprodutiva, determina o grupo de tipo de comunidade bacteriana (Community State Types – CSTs) (JENG *et al.*, 2020; KALIA; SINGH;

KAUR, 2020). Foram descritas cinco comunidades segundo a bactéria mais evidente naquela microbiota, sendo quatro delas descritas com predomínio de lactobacilos. As CSTs são descritas como I, II, III, IV e V com predomínio, respectivamente de *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners*, microbiota polimicrobiana com anaeróbios facultativos e poucos lactobacilos e *L. jensenii* (MASHA *et al.*, 2020).

A frequência das CSTs têm se mostrado variável em diferentes etnias (RAVEL *et al.*, 2011), sendo a CST I mais comum em mulheres Caucasianas e a CST IV mais comum em mulheres Afro-Americanas e Hispânicas. A frequência dessas comunidades também varia de acordo com a origem geográfica (VODSTRCIL *et al.*, 2017). Algumas comunidades microbianas variam transitoriamente para CST IV. O período que uma CST específica poderá permanecer é variável de acordo com o indivíduo, pois há mulheres com comunidades bacterianas vaginais estáveis, enquanto outras frequentemente transicionam entre as comunidades, mais frequentemente para CST IV (RAVEL *et al.*, 2013)

A microbiota vaginal pode apresentar mudanças em sua composição decorrente de estágios da vida da mulher, como na infância, puberdade, gravidez e menopausa. Alguns fatores, porém, podem determinar a alteração da microbiota temporariamente, como o uso de ducha vaginal, uso de medicamentos (antibióticos, por exemplo) e as fases do ciclo menstrual. (KALIA; SINGH; KAUR, 2020; KROON; RAVEL; HUSTON, 2018)

Anahtar *et al.* (2018) sugere, com as evidências atuais, que a microbiota vaginal ótima ou ideal seria com predominância de lactobacilos, sendo o tipo mais frequente em mulheres europeias e americanas brancas (ANAHTAR *et al.*, 2018 ; MASHA *et al.*, 2020).

A composição da microbiota da vagina é resultado dos efeitos do hospedeiro no microambiente vaginal e os efeitos de seus microorganismos entre si. Compreender os mecanismos de fatores relacionados ao hospedeiro e microorganismos é essencial para uma intervenção eficaz, sendo possível o tratamento de infecções, diminuindo os riscos de outras doenças infecciosas e possíveis complicações obstétricas (MASHA *et al.*, 2020).

Uma das possíveis alterações da microbiota é a vaginose bacteriana (VB). Existem duas principais formas para o diagnóstico de VB. A primeira é baseada em critérios clínicos propostos por Amsel et al. em 1983, e a segunda utiliza testes laboratoriais através da avaliação dos morfotipos pela coloração por Gram, chamado de escore de Nugent, proposto em 1991. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera o escore de Nugent como o método padrão-ouro para os estudos sobre VB (MUTHUSAMY *et al.*, 2018). O Escore de Nugent avalia a quantidade de determinado morfotipo tais como *Lactobacillus*, *Mobiluncus* e *Gardnerella*, agregando um escore de acordo com a quantidade encontrada, conforme o QUADRO 2.

Quadro 2: Descrição da pontuação observada para cálculo do escore de Nugent

<b>Escore de Nugent – coloração por gram</b>		
<b>MORFOTIPO DO ORGANISMO</b>	<b>NÚMERO</b>	<b>ESCORE</b>
<b>LACTOBACILOS LIKE</b>	>30	0
<b>MOBILUNCUS LIKE</b>  (BASTONETES CURVOS GRAM NEGATIVAS)	>5	2
	<1-4	1
	0	0
<b>GARDNERELLA/BACTERIOIDES LIKE</b> (minúsculos cocobacilos gram variáveis e bastonetes pleomórficos com vacúolos)	>30	4
	5-30	3
	1-4	2
	<1	1
	0	0

Escore 0-3: normal 4-6: intermediária (repetir após) 7-10: vaginose bacteriana

Adaptado de Muthusamy et al. (MUTHUSAMY *et al.*, 2018).

A melhor abordagem clínica para diagnóstico de VB atualmente baseia-se na coloração por Gram e de acordo com critério de Ison-Hay essa avaliação torna-se mais fácil e rápida, mesmo assemelhando-se ao escore de Nugent (ISON, 2002) (QUADRO 3)

Quadro 3: Descrição dos Critérios de Ison-Hay na coloração pelo Gram

<b>Critérios de ISON-HAY – coloração por gram</b>	
<b>Grau 0</b>	Células epiteliais sem bactérias
<b>Grau I</b>	Lactobacilos (normal)
<b>Grau II</b>	Poucos lactobacilos + outros morfotipos bacterianos (intermediária)
<b>Grau III</b>	Poucos ou lactobacilos ausentes + outros morfotipos bacterianos
<b>Grau IV</b>	Células epiteliais cobertas apenas com cocos Gram positivos

Adaptado de Ison e Hay. (ISON, 2002)

## CITOLOGIA ONCÓTICA

O exame citopatológico é um exame de rastreio para câncer de colo de útero que tornou-se padrão-ouro a partir do ano de 1943, data de publicação do livro “*Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear*” por George Papanicolaou e o patologista Herbert Traut (CHANDRASEKHAR; KRISHNAMURTI, 2018). O teste

coleta células cervicais da zona de transformação (transição de células endocervicais e ectocervicais escamosas) identificando células precursoras de câncer. Esse exame reduziu em cerca de 70% as mortes por câncer de colo de útero quando foi implementado (CHANDRASEKHAR; KRISHNAMURTI, 2018).

Devido ao seu baixo custo e, portanto, a sua disponibilidade, além de sua alta sensibilidade (chegando a 80% em alguns estudos), é amplamente utilizado no mundo. O rastreio do câncer de colo de útero costuma ser exitosa, pois a história natural da doença é lenta e o tratamento das lesões pré-cancerosas mostrou-se bastante eficaz (MEZEI *et al.*, 2017).

O câncer de colo de útero é a segunda maior causa de câncer em mulheres no mundo, sendo a principal causa de mortes por câncer em alguns países em desenvolvimento. O rastreio mostrou-se eficaz para essa doença, tornando-a uma doença prevenível (NAZ *et al.*, 2018). A causa desta patologia é o Papiloma Vírus Humano (HPV) e os fatores de risco associados são relacionados a início de vida sexual em idade jovem, história de doenças sexualmente transmissíveis, múltiplos parceiros sexuais, uso de métodos contraceptivos, tabagismo, paridade e imunossupressão crônica (BROUSSEAU; AHN; MATTESON, 2019; NAZ *et al.*, 2018).

O sistema Bethesda é uma classificação criada pelo National Cancer Institute (NCI) em 1988 para padronizar a citologia cervical/vaginal, no intuito de facilitar a comunicação de informações clinicamente relevantes. A classificação orienta que os laudos contenham três elementos: adequação da amostra, categorização do diagnóstico e o diagnóstico descritivo (CHATTERJEE; COL; GILL, 2000). Dentro dos diagnósticos, a classificação de Bethesda caracteriza-se por categorizar achados celulares benignos, como infecções ou alterações reativas (atrofia, inflamação) e anormalidades de células epiteliais (escamosa ou glandular). Segundo as Diretrizes para o Rastreamento de Câncer de colo de útero do INCA de 2016, quando o resultado citopatológico corresponde a atrofia com inflamação, na ausência de atipias, é considerado fisiológico nos períodos de menopausa e após o parto. Há evidências significativas de que existe dificuldade em fazer diagnóstico diferencial entre lesões intraepiteliais escamosas (alto grau ou baixo grau) e atrofia,

podendo ser realizada estrogonização para melhora do esfregaço em vigência de vaginite atrófica (BRASIL, 2016).

## CITOLOGIA HORMONAL

Os hormônios ovarianos, principalmente estrógeno, agem sobre o epitélio vaginal, tornando possível a avaliação da função ovariana através da coleta de esfregaço vaginal seguida por coloração de Papanicolaou (ELEUTERIO JUNIOR, 2003). A mulher na menacme apresenta um padrão cito-hormonal cíclico, sendo uma maturação crescente no período que vai até a ovulação e decrescente após a ovulação.

A citologia hormonal avalia o grau de maturação do epitélio. O estrógeno determina o amadurecimento do epitélio, apresentando predomínio de células superficiais quanto maior a quantidade de estrógeno e predomínio de células parabasais quando diminui a produção de estrógeno. (SILVA NETO, 2020) A citologia hormonal é um método não invasivo e de baixo custo que mostra diretamente o efeito do estrógeno, contribuindo para a detecção de agravos que podem necessitar de intervenções como terapia hormonal e monitorização de distúrbios do ciclo menstrual. (DUŠKOVÁ *et al.*, 2017)

Na menacme os valores esperados para maturação giram em torno de 60-90, conforme o quadro 4.

Quadro 4: Descrição dos valores de maturação hormonal segundo a fase de vida

VALORES DE MATURAÇÃO HORMONAL	
Recém-nascido	60-70
Infância	0-30
Puberdade	50-60
Menacme	60-90
Gravidez	50-69
Lactação	0-40
Menopausa	0-40

Adaptado de Noções Básicas de Citologia Ginecológica (ELEUTERIO JUNIOR, 2003)

A citologia hormonal avalia o efeito estrogênico através da identificação da maturação do epitélio vaginal.

A técnica inovadora da cirurgia de neovaginoplastia com PTN vem mostrando resultados satisfatórios, sendo necessário o estudo do tecido neoformado, juntamente com a nova microbiota e as influências intrínsecas (como o efeito do estrógeno sobre o novo tecido formado) e extrínsecas (como práticas de higiene) sobre ela para definição de práticas ideais para um microbioma saudável.

## JUSTIFICATIVA

A neovaginoplastia com PTN é uma cirurgia inovadora que traz resultados satisfatórios às pacientes, mostrando-se um método custo-efetivo e, portanto, com potencial para disseminação de sua técnica, com capacitação de diferentes centros no Brasil e no mundo.

A acidez vaginal decorrente do ácido láctico produzido pelos *Lactobacillus* spp. vem sendo fortemente correlacionada à proteção contra infecções, incluindo o HIV e outras infecções sexualmente transmitidas. O estudo da microbiota e de aspectos citológicos em pacientes submetidos à nova técnica de neovaginoplastia permite avaliar os riscos de infecções vaginais posteriores e mesmo de câncer do trato genital inferior.

Este é o primeiro estudo avaliando a bacterioscopia e citologia oncológica e hormonal de pacientes com síndrome de MRKH submetidas a cirurgia inovadora de neovaginoplastia, utilizando a técnica cirúrgica modificada de McIndoe com PTN.

# OBJETIVOS

## Objetivo geral

Avaliar características citológicas e de microbiota em pacientes com Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser submetidas a cirurgia de neovaginoplastia utilizando pele de Tilápia do Nilo.

## Objetivos específicos

Avaliar, em pacientes com Síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser e submetidas a neovaginoplastia com pele de tilápia:

- Atipias celulares vaginais;
- Características hormonais do epitélio vaginal;
- A bacterioscopia do conteúdo vaginal;
- O comprimento vaginal total.
- O exame colposcópico
- Características clínicas e epidemiológicas
- Sintomas vaginais

## CASUÍSTICA E MÉTODOS

Estudo transversal observacional descritivo

### Local do estudo

O estudo realizado no Setor de Clínica Ginecológica da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), hospital terciário de Fortaleza que faz parte do complexo hospitalar da Universidade Federal do Ceará.

### População

Pacientes com Síndrome de Mayer-Rokitansky- Kuster-Hauser submetidas a neovaginoplastia com PTN na Maternidade Escola Assis Chateaubriand em Fortaleza, Ceará. Previamente a realização da cirurgia, a técnica da dilatação foi oferecida para as pacientes, mas houve recusa pelo desejo de ser sexualmente ativa e o desejo de ter trato genital normal.

As pacientes foram internadas na enfermaria de Ginecologia da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, para realizar a cirurgia de neovaginoplastia, utilizando a técnica de McIndoe modificada com PTN processada e esterilizada. O procedimento foi realizado com raquianestesia e consistiu em realizar incisão de três centímetros em sulco vaginal e dissecação romba em plano reto vesical com abertura de espaço virtual, onde foi introduzido molde de acrílico recoberto com a PTN, sendo o molde fixado em grandes lábios com fio de sutura poliglactina.

As pacientes realizaram a cirurgia entre 12 e 24 meses antes da inclusão no estudo e foram convocadas por meio telefônico para consulta presencial e coleta de material vaginal para o estudo. As pacientes foram informadas sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

### Anamnese e Exame físico

As pacientes foram contatadas por telefone para apresentar-se em consulta e, após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido, foram submetidas a anamnese e exame físico.

Durante anamnese foram registradas as seguintes informações:

- Data de nascimento e idade
- Data da cirurgia
- Vida sexual ativa
- Orientação sexual
- Sintomas vaginais

Foram realizadas coletas de material para exames complementares, após o que se realizou colposcopia, com uso de ácido acético a 3% e lugol, sendo realizado registro fotográfico e medição do comprimento vaginal total.

### Citologia, Bacterioscopia e citologia hormonal

Coleta de pequena amostra de conteúdo vaginal de fundo de saco com cotonete e disposto em lâmina com movimentos circulares para realização de exames de bacterioscopia por Gram. Realizada, também, coleta de conteúdo vaginal de fundo de saco com espátula de Ayres disposto em lâmina e inserido em recipiente com álcool etílico a 90% para exame citopatológico de prevenção de câncer (Papanicolaou), após pelo menos 6 meses da realização da cirurgia de neovagina. O material foi encaminhado para o laboratório LABPEC (Laboratório Professor Eleutério da Costa).

Cálculo de citologia hormonal, utilizando a lâmina previamente preparada para estudo citopatológico, através do índice de maturação e valor de maturação celular.

A leitura da lâmina de citologia hormonal se dá pela contagem de células escamosas com morfologia normal. Meisels, em 1967, sugeriu constantes para calcular a maturação das células avaliadas, conforme:

- célula eosinofílica superficial = 1,0
- célula cianofílica superficial = 0,8

- célula intermediária grande = 0,6
- célula intermediária pequena = 0,5
- célula parabasal = 0,0

Posteriormente, foi simplificado conforme pontuação a seguir:

- célula superficial = 1,0
- célula intermediária = 0,5
- célula parabasal = 0,0

O cálculo da citologia hormonal ou valor de maturação é o resultado da multiplicação da porcentagem de cada uma dessas células com sua constante e finalizando com a soma de todas as células.

$$\underline{VM = (\text{parabasais} \times 0) + (\text{intermediarias} \times 0,5) + (\text{superficiais} \times 1)}$$

## Análise estatística

Realizou-se o cálculo do escore de Nugent. Os dados foram categorizados no Microsoft Excel para análise estatística descritiva das variáveis estudadas.

## Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da instituição. Todas as pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de participar do estudo.

## RESULTADOS

Foram avaliadas sete pacientes entre 18 e 36 anos, sendo uma média de 23 anos. Dentre as pacientes do estudo, três (40%) não apresentavam vida sexual ativa, sendo que duas faziam uso do molde vaginal pós-cirúrgico e uma não. Uma paciente relatou orientação sexual homoafetiva (14%). (QUADRO 5)

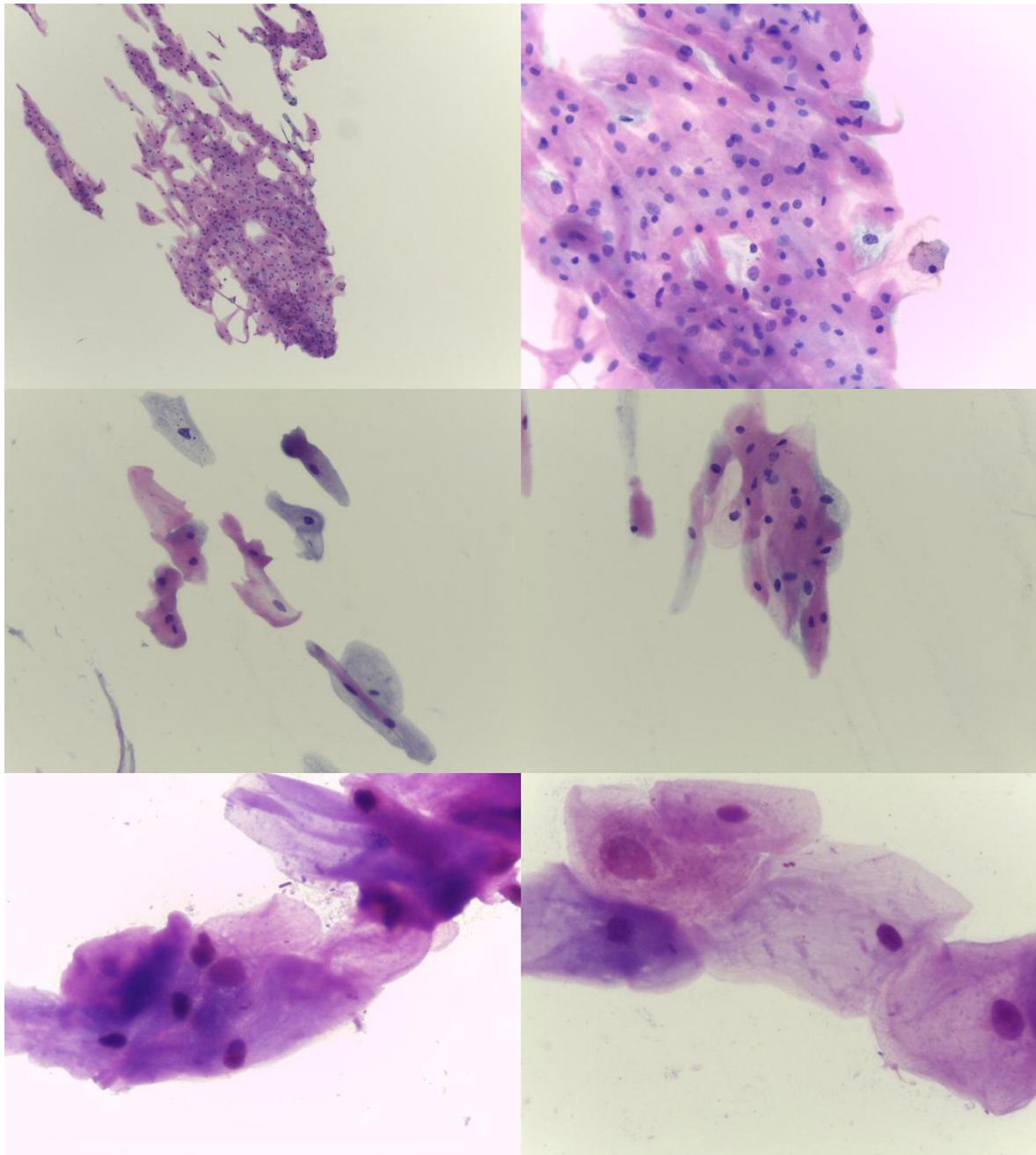
Quadro 5: Características clínicas das mulheres submetidas a reconstrução vaginal com pele de tilápia do Nilo

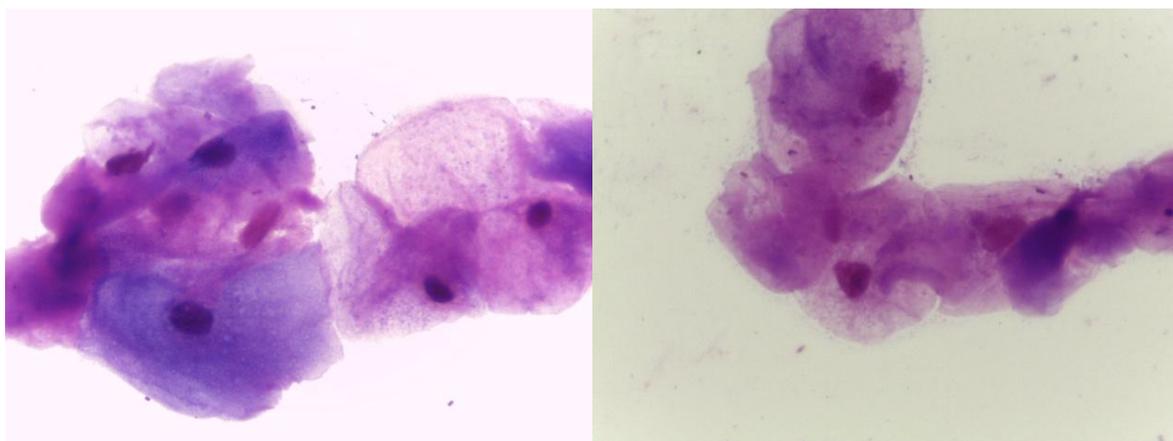
	1	2	3	4	5	6	7
Idade (anos)	20	19	19	24	36	18	26
Vida sexual	SIM	NAO	NAO	SIM	SIM	NAO	SIM
Uso de molde após cirurgia	SIM	SIM	NÃO	SIM	SIM	SIM	SIM
Orientação sexual	Hetero	Hetero	Homo	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
Comprimento vaginal total (cm)	9	10	5	9	9	7	9

O comprimento vaginal total das pacientes avaliadas variou de 5 centímetros até 10 centímetros, sendo que a moda foi de 9 centímetros (4/7 pacientes).

As citologias coletadas revelaram células escamosas em todas as amostras. Não foram encontradas atipias celulares em nenhuma amostra. (FIGURAS 10 a 17)

Figuras 10 a 17: Células escamosas visualizadas em exames citopatológicos de neovagina com pele de tilápia no Nilo





Os cálculos realizados para a avaliação da citologia hormonal resultaram em pontuação que variou de 35 a 80, sendo que uma amostra foi insatisfatória para essa análise. A maioria apresentou citologia hormonal compatível com o menacme (4 pacientes). (QUADRO 6)

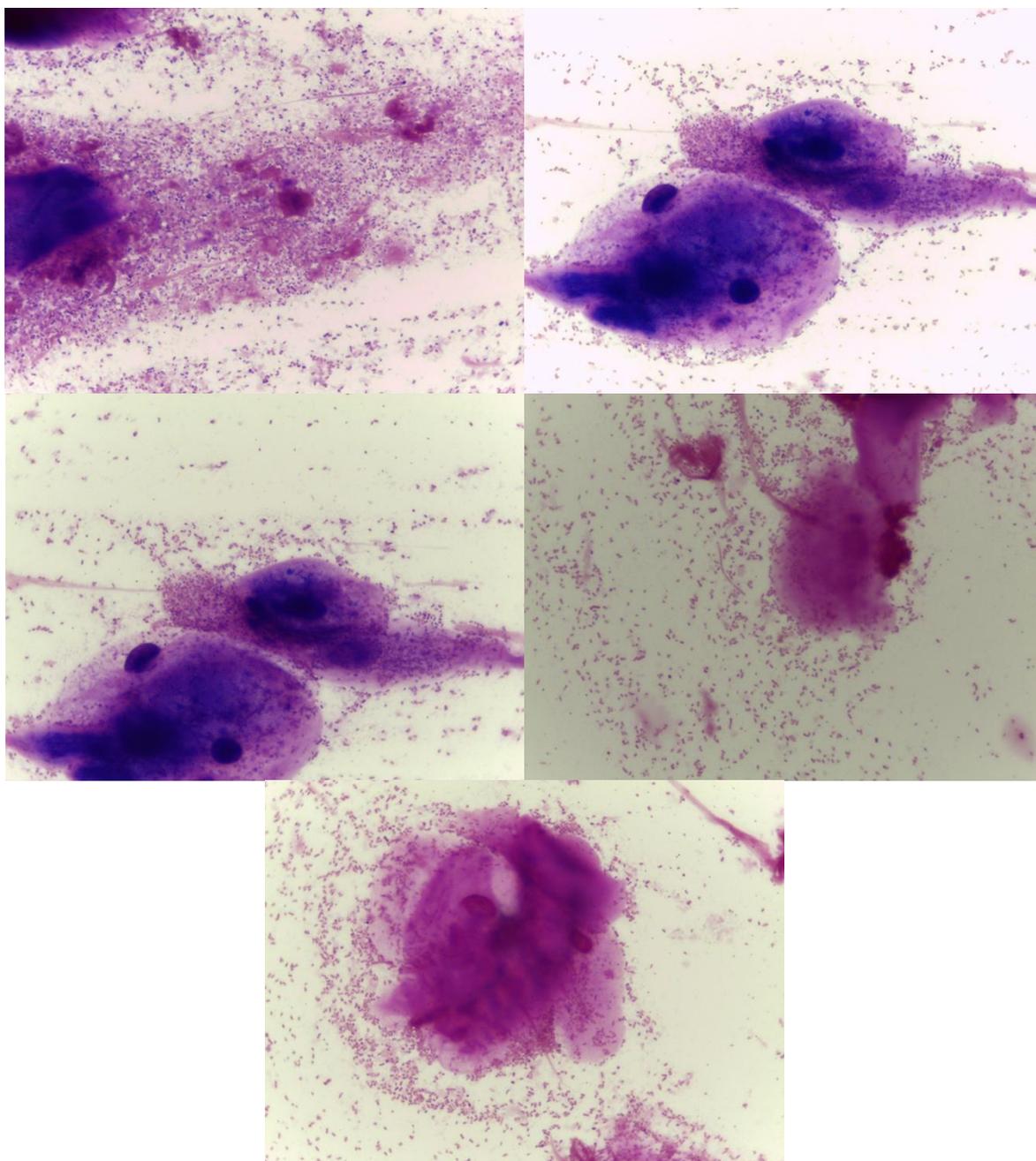
Quadro 6: Resultados de exame citopatológico, gram e citologia hormonal realizados nas mulheres submetidas a reconstrução vaginal com pele de tilápia do Nilo

	1	2	3	4	5	6	7
Citologia	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Células escamosas	+	+	+	+	+	+	+
Leucócitos	-	+++	+	++	++	++	+
Nugent	4	4	4	8	4	4	8
Citologia hormonal	70	Insatisfatória	35	70	74	50	80

Houve uma predominância de cocos gram negativos e cocos gram positivos na bacterioscopia (FIGURAS 18 A 22). A microbiota apresentou-se mais frequentemente como intermediária, com escore de Nugent 4 (5/7 pacientes), porém duas pacientes apresentaram escore de Nugent 8, com microbiota sugestiva de VB. (QUADRO 7)

Uma paciente referiu sintomas de corrimento vaginal aumentado e odor fétido, sendo identificada bacterioscopia sugestiva de vaginose bacteriana e com melhora após o tratamento.

Figuras 18 a 22: Coloração por Gram de bacterioscopia colhida de pacientes com neovagina com pele de Tilápia do Nilo, evidenciando grande quantidade de cocobacilos gram variáveis (vaginose bacteriana)



Quadro 7: Descritivo dos resultados de bacterioscopia pelo Gram das mulheres submetidas a reconstrução vaginal com pele de tilápia do Nilo

	Bacterioscopia (GRAM)	Células escamosas
1	Microbiota pouco desenvolvida constituída por: - <b>Bacilos curtos Gram-negativos</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b> - <b>Cocos aos pares Gram-positivos</b>	Células escamosas superficiais e intermediárias bem preservadas, muitas distorcidas
2	Microbiota bem desenvolvida constituída por: - <b>Bacilos curtos Gram-negativos</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b> - <b>Cocos aos pares Gram-positivos</b>	Células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais bem preservadas, em meio a leucócitos. Histiócitos.
3	Microbiota pouco desenvolvida constituída por: - <b>Bacilos curtos Gram-positivos</b> - <b>Cocos isolados Gram-positivos</b>	Células escamosas intermediárias e parabasais, em meio a eventuais leucócitos e filamentos de muco.
4	Microbiota bem desenvolvida constituída por: - <b>Cocobacilos Gram-variáveis</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b>	Células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais bem preservadas, em meio a leucócitos.
5	Microbiota bem desenvolvida constituída por: - <b>Bacilos médios Gram-negativos</b> - <b>Cocos isolados Gram-positivos</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b> - <b>Cocos aos pares Gram-positivo</b>	Células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais bem preservadas, em meio a leucócitos. Hemácias íntegras.
6	Microbiota bem desenvolvida constituída por: - <b>Bacilos curtos Gram-negativos</b> - <b>Cocos isolados Gram-positivos</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b>	Células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais, bem como células de metaplasia escamosa imatura, em meio a leucócitos. Hemácias íntegras.
7	Microbiota bem desenvolvida constituída por: - <b>Cocobacilos Gram-variáveis</b> - <b>Cocos isolados Gram-positivos</b> - <b>Cocos isolados Gram-negativos</b>	Células escamosas superficiais e intermediárias bem preservadas, em meio a poucos leucócitos.

	<b>- Cocos aos pares Gram-positivos</b>	
--	---	--

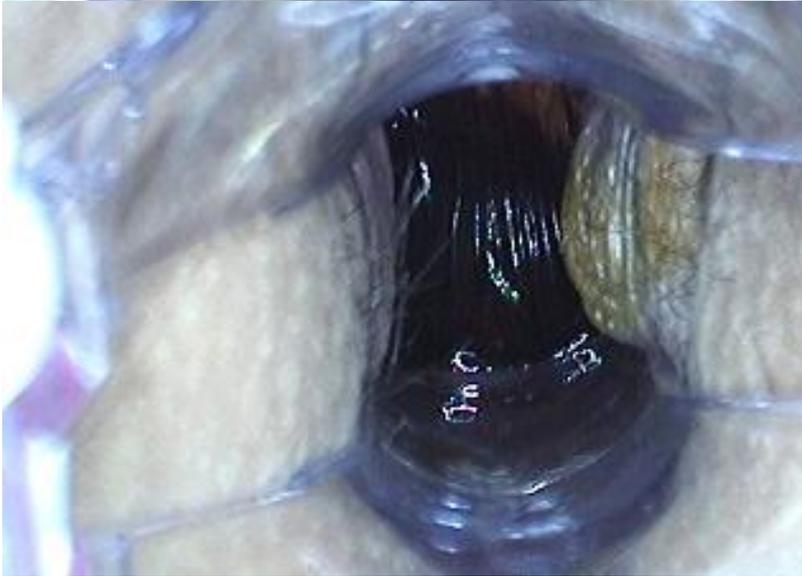
Durante a realização da colposcopia, antes da aplicação de ácido acético e lugol, pudemos evidenciar mucosa epitelizada em toda a extensão vaginal, sendo visualizado granuloma em cúpula vaginal em apenas uma das pacientes avaliadas. Utilizamos ácido acético a 3%, não sendo evidenciada acetorreação em nenhuma paciente. A coloração com lugol mostrou-se satisfatória em todas as pacientes, apresentando teste de Schiller iodo positivo (FIGURAS 23 a 26).

Figuras 23 e 24. Exame colposcópico de duas pacientes com neovagina de pele de tilápia do Nilo após 12 e 24 meses





Figuras 25 e 26. Colposcopia em paciente com neovagina de pele de Tilápia do Nilo após 22 meses evidenciando captação de lugol por toda a vagina uniformemente



## DISCUSSÃO

A microbiota vaginal das pacientes deste estudo, em sua maioria, apresentou-se como intermediária devido à presença de poucos bacilos visualizados na coloração por Gram. De um modo geral, a microbiota vaginal é descrita como normal quando há predomínio de *Lactobacillus* spp. Este achado pode sugerir uma fase de adaptação da epitelização após a cirurgia. Mesmo o escore de Nugent sendo considerado o padrão-ouro pela OMS, deve-se atentar ao fato de que a microbiota intermediária não é bem caracterizada, tornando-se um desafio para o diagnóstico de VB. Além disso, a identificação dos morfotipos é examinador-dependente, sendo influenciado pela experiência e por habilidades individuais (ABOU CHACRA *et al.*, 2022).

Em estudo prévio com 50 pacientes submetidas a cirurgia de neovaginoplastia com retalho peniano, 44 amostras evidenciaram microbiota mista similar à VB, contendo diferentes quantidades de cocos, bastonetes Gram-negativos e Gram-positivos polimorfos, muitas vezes com bastonetes fusiformes e em forma de vírgula, e às vezes até com espiroquetas (WEYERS *et al.*, 2009). (BIRSE *et al.*, 2020) observaram que pacientes com neovagina utilizando retalho peniano apresentam microbiota diversa, polimicrobiana, assemelhando-se a pênis não circuncisado, e respostas do hospedeiro semelhantes à VB, incluindo vias de ativação imune aumentadas e função de barreira epitelial diminuída.

WEYERS *et al.* (2010) evidenciaram VB em 50% das pacientes, assim como outros estudos com neovagina revestidas com pele peniana, podendo sugerir que o compartimento vaginal é semeado por bactérias encontradas no compartimento retal, incluindo níveis elevados de *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Porphyromonas* e *Peptostreptococcus* (PETRICEVIC *et al.*, 2014; WEYERS, Steven *et al.*, 2009).

Parece haver uma opinião geral de que a neovagina com pele de pênis não tem capacidade de suportar o crescimento de lactobacilos, mostrando microbiota mista com microorganismos aeróbicos e anaeróbicos e número limitado de lactobacilos (PETRICEVIC *et al.*, 2014; WEYERS *et al.*, 2009). Weyers *et al.* (2009) avaliaram as amostras por microscopia e sugeriram que as pacientes avaliadas em seu estudo apresentavam níveis de estrogênio semelhantes a níveis de pacientes pós menopausa, não sendo um meio suscetível ao crescimento de lactobacilos. A

avaliação de amostras por biologia molecular identificou lactobacilos em cerca de 75% das pacientes (PETRICEVIC *et al.*, 2014).

Outros autores avaliaram os efeitos na ingestão oral de preparação de lactobacilos sobre a microbiota de 60 mulheres transexuais submetidas à cirurgia de redesignação sexual com neovagina utilizando a técnica do retalho de pele peniana invertida. Durante a primeira análise, prévia a intervenção, foi encontrada uma média de escore de Nugent de 5 nos grupos controle e intervenção. Após uma semana do uso oral de lactobacilos, foi detectada uma média de escore de Nugent de 5 no grupo intervenção e de 6 no grupo controle. (KAUFMANN *et al.*, 2014)

O desenvolvimento da microbiota da neovagina de mulheres transsexuais é demorado e confuso devido a composição diferente da microbiota intestinal como fonte de bactérias vaginais e as diferenças entre o ambiente da neovagina e da vagina natural. Portanto, a administração oral de probióticos contendo lactobacilos que resistem à passagem gastrointestinal, podem aumentar o reservatório de lactobacilos intestinais, que podem colonizar a neovagina ou contribuir para a estabilidade de uma microbiota vaginal saudável. (DE VRESE *et al.*, 2019)

Estudo retrospectivo com 55 pacientes submetidas à neovagina pela técnica de Frank ou de McIndoe demonstrou presença de bacilos de Döderlein em 90% das neovaginas com a primeira técnica, mas ausentes na última. Nesta última, havia disbiose, sem demonstração de atividade estrogênica (HAYASHIDA *et al.*, 2015). Há ainda uma série de casos que demonstrou candidíase em neovaginas de cinco mulheres. (DE HASETH *et al.*, 2018)

Revisão sistemática recente que incluiu 458 pacientes submetidas a neovagina por enxerto de pele peniana, segmentos sigmóides e enxertos peritoneais identificou microflora polimicrobiana, com presença de *Lactobacillus* spp., sugerindo capacidade dessa proliferação de origem inata, via migração retal ou mesmo por suplementação oral com probióticos. Nove de 13 estudos incluídos observaram ambiente polimicrobiano semelhante à VB. Houve ainda poucos dados sobre o impacto da duração pós-cirúrgica, uso de hormônios orais, dilatação, práticas sexuais ou realização de duchas no microbioma neovagina (MORA *et al.*, 2022). Vale ressaltar que a disbiose anaeróbica tem sido associada ao aumento da inflamação do trato genital e aumento do risco de aquisição de ISTs em mulheres. (BIRSE *et al.*, 2020)

SANTIAGO et al. (2012) encontraram em seu estudo que durante o período menstrual os *Lactobacillus* spp. tendem a diminuir em quantidade, com exceção do *L. iners*. Em contrapartida, no período fora da menstruação, a microbiota revelou-se mais estável. Acredita-se que a composição da microbiota vaginal interfira na fertilidade e nos desfechos de seu tratamento. (KROON; RAVEL; HUSTON, 2018)

Há dados limitados sobre a composição e função do microbioma neovaginal, representando uma grande lacuna no conhecimento em saúde neovagina (BIRSE et al., 2020). QIN et al. (2019) demonstraram que, com o passar do tempo após vaginoplastia peritoneal laparoscópica, a disbiose vaginal observada inicialmente gradualmente se tornava normal.

Compreender os mecanismos de fatores relacionados ao hospedeiro e micro-organismos é essencial para uma intervenção eficaz, sendo possível o tratamento de infecções, diminuindo os riscos de outras doenças infecciosas e possíveis complicações obstétricas (MASHA et al., 2020). Além de auxiliar o desenvolvimento de estratégias para proteção e cura, os estudos contribuem para otimizar o microbioma vaginal utilizando produtos bioterapêuticos ou cepas de *Lactobacillus* spp. racionalmente. (KROON; RAVEL; HUSTON, 2018)

As amostras de citologia oncótica colhidas neste estudo revelaram células escamosas em todas das pacientes, evidenciando epitelização vaginal semelhante a vaginas de pacientes que não foram submetidas a cirurgia de neovaginoplastia, sendo estas células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais. Weyers et al. (2010) avaliaram o exame citopatológico de 50 pacientes com neovaginoplastia de retalho de pele peniana, encontrando células escamosas bem preservadas em 72% das pacientes, lactobacilos em 4% e células inflamatórias em 22%. Observaram ainda coilocitos em uma das pacientes, com teste do HPV PCR positivo, tendo resultado de lesão intraepitelial de baixo grau. No mesmo estudo, detectaram-se células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) em 8% das pacientes, porém com teste do HPV negativo. Outros estudos também revelaram lesões vaginais HPV-induzidas e mesmo carcinoma escamoso após cirurgias de neovagina. (FREGA et al., 2011; GROSSE et al., 2017; STEINER et al., 2002)

Verrugas anogenitais foram relatadas em mulheres transgênero após cirurgia de afirmação de gênero com uso de inversão peniana. Os tecidos penianos e

escrotais utilizados parecem estar associados às maiores taxas de infecção por HPV. Não se sabe se as verrugas neovaginais surgem do enxerto de pele previamente infectada ou do contato da neovagina com o HPV através do coito (FEIN; MARBIN, 2020).

Considerando a detecção de epitelização adequada com células escamosas das pacientes neste estudo, e analisando achados dos estudos semelhantes, percebemos a importância de estudar a microbiota de tais pacientes, pois há possibilidade de afecções tanto de natureza puramente infecciosas, abrangendo inclusive infecções sexualmente transmissíveis, como a possibilidade de lesões precursoras de câncer de colo uterino. Como as lesões HPV-induzidas podem se desenvolver na neovagina, as pacientes devem ser submetidas a programas de rastreamento do câncer.

Há ainda escassez de dados sobre o tipo de práticas que promovem um microambiente neovaginal ideal, tanto no pós-operatório imediato quanto para higiene e cuidados a longo prazo. Devido à falta de diretrizes baseadas em evidências, as recomendações de cuidados neovaginais variam substancialmente entre os centros (GRIMSTAD; MCLAREN; GRAY, 2021) como por exemplo quanto à frequência de dilatação no pós-operatório, à recomendação de lubrificantes, duchas vaginais e outros produtos de higiene.

Este estudo apresentou limitações por ser o primeiro estudo avaliando pacientes submetidas a cirurgia de neovaginoplastia com pele de tilápia do Nilo, uma tecnologia inovadora, com número reduzido de pacientes que realizaram o procedimento de neovaginoplastia com essa técnica até o ano de 2020. Além disso, devido ao período de pandemia da COVID-19, duas pacientes não coletaram amostras no primeiro ano do estudo devido às restrições de circulação de pessoas a época.

São necessários novos estudos com maior número de pacientes para um conhecimento mais abrangente sobre a microbiota e o microbioma na neovagina com pele de tilápia, avaliando citologia, bacterioscopia, microbioma vaginal e pesquisa do vírus HPV, assim possibilitando conhecimento e respaldo para tratamento e prevenção de patologias relacionadas a estas pacientes. Novas coletas em períodos diferentes do pós-operatório, poderiam também demonstrar uma microbiota mais estável para acompanhamento adequado destas pacientes.

Atualmente, no serviço de Ginecologia da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, foram realizadas 25 cirurgias de neovaginoplastia utilizando a técnica com pele de tilápia do Nilo, sendo 3 pacientes com Síndrome de Morris e 22 pacientes com síndrome de Rokitansky. Outros centros especializados no Brasil receberam capacitação em São Paulo, Campinas e Belo Horizonte, além de um centro especializado no exterior, em Cali, na Colômbia, com a realização de cirurgias para pacientes com Síndrome de Rokitansky, Síndrome de Morris, cirurgia de redesignação sexual, cirurgia após câncer de vagina e cirurgia após radioterapia por câncer de colo de útero.

Diante dos dados apresentados, percebemos a necessidade da continuidade de estudos para aprimorar os conhecimentos sobre a neovagina com pele de tilápia e avaliar tanto a microbiota como o microbioma vaginal, pois serão de suma importância para a melhoria da saúde dessas pacientes, possibilitando tratamento e prevenção de doenças associadas.



## CONCLUSÃO

Neste estudo, o resultado do exame citopatológico mostrou células escamosas em todas as pacientes, sem atipias celulares ou malignidade nas amostras. Durante a realização da colposcopia, não se evidenciou acetorreação, e todas as pacientes apresentaram coloração com lugol difusamente. A microbiota mostrou-se, em sua maioria, intermediária (Nugent 4), sugerindo um meio transitório ou em adaptação após a cirurgia. A escassez de lactobacilos identificada nas pacientes deste estudo sugere uma disbiose, demonstrando um meio suscetível a infecções, sendo necessário acompanhamento em estudos futuros, incluindo definição de microbioma, para avaliação do comportamento evolutivo da microbiota. Na avaliação da citologia hormonal evidenciamos achados compatíveis com a menacme na maioria das pacientes. A maioria das pacientes apresentou comprimento vaginal de 9 centímetros. Uma paciente referiu sintomas de corrimento vaginal aumentado e odor fétido, sendo identificada bacterioscopia sugestiva de vaginose bacteriana e com melhora após o tratamento.

## APÊNDICE

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidada por mim, Maria Tereza Pinto Medeiros Dias, a participar, voluntariamente, da Pesquisa que estou desenvolvendo, intitulada NEOVAGINOPLASTIA COM USO DE PELE DE TILÁPIA DO NILO PROCESSADA. Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária nesse estudo sobre correção de malformação vaginal.

Estamos realizando em nosso departamento cirurgias para correção de ausência de vagina, usando a pele da tilápia do Nilo processada, um biomaterial nobre e de alta qualidade com sua resistência peculiar, embora não existam estudos que evidenciem sua resistência como pele não submetida ao curtimento. Esse material já é utilizado em queimaduras e feridas com segurança e bons resultados. O processamento, descontaminação e esterilização foi registrado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) com o número BR1020150214359.

Para a cirurgia será necessário um preparo intestinal, com uso de laxativos. Abriremos a cavidade vaginal, que será preenchida por um conformador vaginal recoberto com a pele da tilápia processada para criar uma nova vagina. Este conformador utilizado nos dias de internação é providenciado pelo serviço de ginecologia da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC/UFC), mas um novo conformador deve ser providenciado pela paciente para seu uso na residência, sem nenhum tipo de ajuda de custo pela instituição.

Após a cirurgia deve ser feito um repouso absoluto no leito hospitalar por sete a dez dias para cicatrização. Tendo boa evolução, você receberá alta hospitalar após esse período e receberá as orientações para os cuidados que deverá seguir em casa, retornando regularmente ao ambulatório de Gineco-endocrinologia. Serão feitas 3 avaliações com intervalo de 1 mês, 3 meses e 6 meses da cirurgia, onde será feito exame físico ginecológico e pequenas biópsias da vagina para estudar o tecido novo que está se formando, além de pequena amostra de conteúdo vaginal para realização de exames de pesquisa de bactérias e fungos, além de prevenção de câncer de vagina, após pelo menos 6 meses da realização de sua cirurgia ginecológica com anestesia. Trata-se de uma coleta de conteúdo vaginal, que não causará nenhum desconforto a mais do que o seu exame especular de seguimento já previsto.

Os riscos desta cirurgia são os mesmos de qualquer outra cirurgia: riscos da anestesia, sangramento e infecção. Além destes, há uma possível complicação das cirurgias de reconstrução vaginal: má resposta do corpo ao material e estenose (estreitamento) vaginal. Não encontramos nos estudos nenhum risco específico da pele da tilápia do Nilo processada. Além desse material, há outros tipos de material que podem ser utilizados para reconstrução da vagina. Podem ser utilizados retalhos (pedaços) de pele da própria paciente, esta cirurgia tem como desvantagens a cicatriz na coxa ou abdome e maior taxa de infecção. Podem ser utilizados também fragmentos (pedaços) do intestino e peritônio, esta cirurgia tem como desvantagens a abertura da barriga e maior tempo de cirurgia.

Sua participação nesse estudo não levará a nenhum desconforto além do já previsto para a realização da cirurgia de reconstrução vaginal que você deseja fazer para melhorar sua qualidade de vida. Eu, Dra. Maria Tereza Pinto Medeiros Dias, médica ginecologista e preceptora da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), situada na Rua Coronel de Melo Nunes, sem número, bairro Rodolfo Teófilo, telefone 3366-8506, como pesquisadora principal desse estudo, estou a sua disposição para esclarecimentos, e também o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola Assis Chateaubriand no telefone 3366.8569, informações dos resultados e assistência durante o período póoperatório.

Em caso de dano pessoal diretamente causado por procedimentos ou tratamentos propostos nesse estudo, o participante tem direito a tratamento médico na Instituição. Em caso de dúvida sobre a ética da pesquisa entrar em contato com o Comitê de Ética da Maternidade Escola Assis Chateaubriand no mesmo endereço acima citado.

É garantida a retirada de consentimento e participação no estudo a qualquer momento, podendo você continuar seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão usadas exclusivamente na realização desse estudo, estando garantida a confidencialidade na identidade de seus participantes.

A participação deste estudo não acarreta despesas pessoais com exames, consultas, internação ou honorários médicos. A compra do conformador vaginal não tem relação com esse estudo, já faz parte da sua cirurgia (seu tratamento), independente de você participar deste estudo. O hospital não dispõe deste recurso. Não há compensação financeira relacionada à sua participação.

Acredito ter sido suficientemente informada a respeito das informações que li ou que me foram lidas, descrevendo o estudo sobre o uso da pele processada da tilápia para cirurgia de reconstrução vaginal.

Discuti com a Dra. Maria Tereza Pinto Medeiros Dias sobre minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo ao meu atendimento nesse serviço.

Data //

Assinatura do paciente ou Representante

Data //

Assinatura da testemunha Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária O consentimento livre e esclarecido deste paciente ou representante legal para participação neste estudo.

Data //

Maria Tereza Pinto Medeiros Dias

Pesquisador principal

Ficha de coleta de dados

<b>Nome:</b>	<b>Data de Nascimento:</b> _ / _ / _	<b>Idade:</b>	<b>Prontuário:</b>
<b>Telefone:</b>	( ) _____		
<b>Data da Cirurgia:</b>	_ / _ / _		
<b>Data da Coleta de exame:</b>	<b>CO:</b> _ / _ / _	<b>Bacterioscopia:</b> _ / _ / _	
<b>Orientação Sexual</b>	<b>Hetero:</b>	<b>Homo:</b>	
<b>Vida Sexual Ativa</b>	<b>Sim:</b>	<b>Não:</b>	
<b>Comprimento Vaginal total (cm):</b>			
<b>Sintomas vaginais:</b>			
<b>TCLE</b>	<b>Sim:</b>	<b>Não:</b>	

## REFERÊNCIAS

- ABOU CHACRA, Linda; FENOLLAR, Florence; DIOP, Khoudia; IVANOVA PETROVA, Mariya; LEUVEN, Ku; DAVID SOBEL, Jack. Bacterial Vaginosis: What do we currently know? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), vol. 11, p. 1, 2022. DOI 10.3389/fcimb.2021.672429. Available at: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org).
- ACOG. ACOG Committee Opinion No. 355: Vaginal agenesis: diagnosis, management, and routine care. **ACOG Committee on Adolescent Health Care. No. 355:**, vol. 108, p. 1605–9, 2006. .
- ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; PICCOLO, Nelson Sarto; DE MIRANDA, Marcelo José Borges; LIMA VERDE, Maria Elisa Quezado; FERREIRA JÚNIOR, Antônio Ernando Carlos; DE BARROS SILVA, Paulo Goberlânio; FEITOSA, Victor Pinheiro; DE BANDEIRA, Tereza Jesus Pinheiro Gomes; MATHOR, Monica Beatriz; DE MORAES, Manoel Odorico. Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. **Cell and Tissue Banking**, vol. 19, no. 3, p. 373–382, 2018. DOI 10.1007/s10561-017-9681-y. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9681-y>.
- ANAHTAR, Melis N.; GOOTENBERG, David B.; MITCHELL, Caroline M.; KWON, Douglas S. Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity. **Cell Host and Microbe**, vol. 23, no. 2, p. 159–168, 2018. DOI 10.1016/j.chom.2018.01.013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.01.013>.
- BIRSE, Kenzie D.; KRATZER, Kateryna; ZUEND, Christina Farr; MUTCH, Sarah; NOËL-ROMAS, Laura; LAMONT, Alana; ABOU, Max; JALIL, Emilia; VELOSO, Valdiléa; GRINSZTEJN, Beatriz; FRIEDMAN, Ruth Khalili; BROLIDEN, Kristina; BRADLEY, Fridborg; POLIQUIN, Vanessa; LI, Fan; YANAVICH, Carolyn; BURGNER, Adam; ALDROVANDI, Grace. The neovaginal microbiome of transgender women post-gender reassignment surgery. **Microbiome**, vol. 8, no. 1, p. 1–13, 2020. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00804-1>.
- BLEGGI-TORRES, L F; WERNER, B; PIAZZA, M J. **Ultrastructural study of the neovagina**. [S. l.: s. n.], 1997.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Diretrizes Brasileiras para o rastreamento Do Câncer Do Colo Do Útero**. [S. l.: s. n.], 2016. vol. XXXIII, . Available at: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/rastreamento\\_cancer\\_colo\\_uterio.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf).
- BRESHEARS, Laura M.; EDWARDS, Vonetta L.; RAVEL, Jacques; PETERSON, Marnie L. Lactobacillus crispatus inhibits growth of Gardnerella vaginalis and Neisseria gonorrhoeae on a porcine vaginal mucosa model. **BMC Microbiology**, vol. 15, no. 1, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0608-0>.
- BRINDEAU A. Création d'un vagin artificiel à l'aide des membranes ovulaires d'un oeuf à terme. **Gynecol Obstet.**, vol. 29, p. 385, 1934. .
- BROUSSEAU, Erin Christine; AHN, Susie; MATTESON, Kristen A. Cervical Cancer Screening Access, Outcomes, and Prevalence of Dysplasia in Correctional Facilities: A Systematic Review. **Journal of Women's Health**, vol. 28, no. 12, p. 1661–1669, 2019. <https://doi.org/10.1089/jwh.2018.7440>.
- BÜRGER, Rainer A.; RIEDMILLER, Hubertus; KNAPSTEIN, Paul G.; FRIEDBERG, Volker; HOHENFELLNER, Rudolf. Ileocecal vaginal construction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, vol. 161, no. 1, p. 162–167, 1989. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(89\)90256-1](https://doi.org/10.1016/0002-9378(89)90256-1).
- CAO, Lili; WANG, Yanzhou; LI, Yudi; XU, & Huicheng. Prospective randomized comparison of laparoscopic peritoneal vaginoplasty with laparoscopic sigmoid vaginoplasty

for treating congenital vaginal agenesis. **The International Urogynecological Association**, vol. 24, p. 1173–1179, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00192-012-1991-9>.

CARVALHO, Bruno Ramalho de; REIS, Rosana Maria dos; MOURA, Marcos Dias de; LARA, Lúcia Alves da Silva; NOGUEIRA, Antônio Alberto; FERRIANI, Rui Alberto. Neovaginoplastia com membrana amniótica na síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, vol. 29, no. 12, p. 619–624, 2007. <https://doi.org/10.1590/s0100-72032007001200004>.

CHANDRASEKHAR, Vijayalakshmi; KRISHNAMURTI, Chandrasekhar. George Papanicolaou (1883–1962): Discoverer of the Pap Smear. **Journal of Obstetrics and Gynecology of India**, vol. 68, no. 3, p. 232–235, 2018. <https://doi.org/10.1007/s13224-018-1102-z>.

CHATTERJEE, Maj T; COL, Lt; GILL, S S. **STANDARDIZATION OF CERVICAL/VAGINAL CYTOPATHOLOGY REPORTING: THE BETHESDA SYSTEM (TBS) FOR REPORTING CERVICAL/VAGINAL CYTOLOGIC DIAGNOSES**. [*S. l.: s. n.*], 2000. [https://doi.org/10.1016/S0377-1237\(17\)30090-4](https://doi.org/10.1016/S0377-1237(17)30090-4).

COSTA, Bruno Almeida; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; DE MORAES FILHO, Manoel Odorico; FECHINE, Francisco Vagnaldo; DE MORAES, Maria Elisabete Amaral; SILVA JÚNIOR, Francisco Raimundo; DO NASCIMENTO SOARES, Maria Flaviane Araújo; ROCHA, Marina Becker Sales. Use of Tilapia Skin as a Xenograft for Pediatric Burn Treatment: A Case Report. **Journal of Burn Care and Research**, vol. 40, no. 5, p. 714–717, 2019. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irz085>.

DATCU, Raluca; GESINK, Dionne; MULVAD, Gert; MONTGOMERY-ANDERSEN, Ruth; RINK, Elisabeth; KOCH, Anders; AHRENS, Peter; SKOV JENSEN, Jørgen. **Vaginal microbiome in women from Greenland assessed by microscopy and quantitative PCR**. [*S. l.: s. n.*], 2013. DOI 10.1186/1471-2334-13-480. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/13/480>.

DAVYDOV, S N; ZHVITIASHVILILE, O D. Formation of vagina (colpopoiesis) from peritoneum of Douglas pouch. **Acta Chir Plast**, vol. 16, no. 1, p. 35–41, 1974. .

DE HASETH, Kristin B.; BUNCAMPER, Marlon E.; ÖZER, Müjde; ELFERING, Lian; SMIT, Jan Maerten; BOUMAN, Mark Bram; VAN DER SLUIS, Wouter B. Symptomatic Neovaginal Candidiasis in Transgender Women after Penile Inversion Vaginoplasty: A Clinical Case Series of Five Consecutive Patients. **Transgender Health**, vol. 3, no. 1, p. 105–108, 2018. <https://doi.org/10.1089/trgh.2017.0045>.

DE VRESE, M.; LAUE, C.; PAPAZOVA, E.; PETRICEVIC, L.; SCHREZENMEIR, J. Impact of oral administration of four lactobacillus strains on nugent score – Systematic review and meta-analysis. **Beneficial Microbes**, vol. 10, no. 5, p. 483–496, 2019. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0129>.

DIAS, Maria Tereza Pinto Medeiros; BILHAR, Andreisa Paiva Monteiro; RIOS, Livia Cunha; COSTA, Bruno Almeida; DUETE, Úlima Rates; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes; BRUNO, Zenilda Vieira; MORAES FILHO, Manoel Odorico de; BEZERRA, Leonardo Robson Pinheiro Sobreira. Neovaginoplasty for radiation-induced vaginal stenosis using Nile Tilapia Fish Skin as a biological graft. **Journal of Surgical Case Reports**, vol. 2019, no. 11, p. 1–3, 2019. <https://doi.org/10.1093/jscr/rjz311>.

DIAS, Maria Tereza Pinto Medeiros; BILHAR, Andreisa Paiva Monteiro; RIOS, Livia Cunha; COSTA, Bruno Almeida; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes; BRUNO, Zenilda Vieira; MORAES FILHO, Manoel Odorico de; BEZERRA, Leonardo Robson Pinheiro Sobreira. Neovaginoplasty Using Nile Tilapia Fish Skin as a New Biologic Graft in Patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, vol. 27, no. 4, p. 966–972, 2020. DOI 10.1016/j.jmig.2019.09.779. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2019.09.779>.

DIAS, Maria Tereza Pinto Medeiros; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes; BILHAR, Andreisa Paiva Monteiro; RIOS, Livia Cunha; COSTA, Bruno Almeida; MATOS, Eduarda Syhara Rocha; VENANCIO, Ana Cecília; BRUNO, Zenilda Vieira; DE MORAES FILHO, Manoel Odorico; BEZERRA, Leonardo Robson Pinheiro Sobreira. Tilapia fish skin as a new biologic graft for neovaginoplasty in Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: a video case report. **Fertility and Sterility**, vol. 112, no. 1, p. 174–176, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.04.003>.

DUŠKOVÁ, Jaroslava; GOLDOVÁ, Barbara; MATIÁŠKOVÁ, Lenka; BEKOVÁ, Alena; SKŘENKOVÁ, Jana. Contribution of Hormonal Cytology in Girls and Adolescents to Reproductive Health: A Traditional Technique Monitoring Recent Problems. **Acta Cytologica**, vol. 61, no. 2, p. 125–132, 2017. <https://doi.org/10.1159/000470898>.

ELEUTERIO JUNIOR, Jose. **Noções Básicas de Citologia Ginecológica**. [S. l.: s. n.], 2003.

FEIN, Lydia A.; MARBIN, Staci J. Condylomata acuminata of the neovagina in a transgender woman treated with trichloroacetic acid. **International Journal of STD and AIDS**, vol. 31, no. 10, p. 1011–1013, 2020. <https://doi.org/10.1177/0956462420937161>.

FERREIRA, José Arnaldo de Souza. Vaginoplastia com utilização de enxerto de pele da região abdominal inferior. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, vol. 25, no. 1, p. 17–22, 2003. <https://doi.org/10.1590/s0100-72032003000100003>.

FRANK, RT. The formation of an artificial vagina without operation. **Am J Obstet Gynecol.**, vol. 35, p. 1053–5, 1938. .

FREGA, Antonio; SCIRPA, Paolo; SOPRACORDEVOLLE, Francesco; BIAMONTI, Alberto; BIANCHI, Paola; DE SANCTIS, Luana; LORENZON, Laura; PACCHIAROTTI, Arianna; FRENCH, Deborah; MOSCARINI, Massimo. Impact of human papillomavirus infection on the neovaginal and vulval tissues of women who underwent surgical treatment for Mayer-Rokitansky-Kuster- Hauser syndrome. **Fertility and Sterility**, vol. 96, no. 4, p. 969–973, 2011. DOI 10.1016/j.fertnstert.2011.07.1099. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.07.1099>.

GOLDWYN, RM. HISTORY OF ATTEMPTS FORM A VAGINA. **PLASTIC & RECONSTRUCTIVE SURGERY**, vol. 59, no. 319–29, 1977. .

GRIMSTAD, Frances; MCLAREN, Hillary; GRAY, Meredith. The gynecologic examination of the transfeminine person after penile inversion vaginoplasty. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, vol. 224, no. 3, p. 266–273, 2021. DOI 10.1016/j.ajog.2020.10.002. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.10.002>.

GROSSE, A.; GROSSE, C.; LENGGENHAGER, D.; BODE, B.; CAMENISCH, U.; BODE, P. Cytology of the neovagina in transgender women and individuals with congenital or acquired absence of a natural vagina. **Cytopathology**, vol. 28, no. 3, p. 184–191, 2017. <https://doi.org/10.1111/cyt.12417>.

HAYASHIDA, Sylvia A.; SOARES-JR, José Maria; COSTA, Elaine M.F.; DA FONSECA, Angela M.; MACIEL, Gustavo A.R.; MENDONÇA, Berenice B.; BARACAT, Edmund C. The clinical, structural, and biological features of neovaginas: A comparison of the Frank and the McIndoe techniques. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, vol. 186, p. 12–16, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.12.025>.

HENSLE, T W; REILEY, E A. Vaginal replacement in children and young adults. **The journal of Urology**, vol. 159, no. 3, p. 1035–8, 1998. .

HERLIN, Morten Krogh; PETERSEN, Michael Bjørn; BRÄNNSTRÖM, Mats. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome: A comprehensive update. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, vol. 15, no. 1, p. 1–16, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01491-9>.

ISON, C A. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. 2002. DOI 10.1136/sti.78.6.413. Available at:

<http://sti.bmj.com/>.

JENG, Wallace; CHEE, Yang; CHEW, Shu Yih; THIAN, Leslie; THAN, Lung. Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. 2020. DOI 10.1186/s12934-020-01464-4. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01464-4>.

KALIA, Namarta; SINGH, Jatinder; KAUR, Manpreet. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. **Ann Clin Microbiol Antimicrob**, vol. 19, p. 5, 2020. DOI 10.1186/s12941-020-0347-4. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12941-020-0347-4>.

KAUFMANN, Ulrike; DOMIG, Konrad J.; LIPPITSCH, Christina I.; KRALER, Manuel; MARSCHALEK, Julian; KNEIFEL, Wolfgang; KISS, Herbert; PETRICEVIC, Ljubomir. Ability of an orally administered lactobacilli preparation to improve the quality of the neovaginal microflora in male to female transsexual women. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, vol. 172, no. 1, p. 102–105, 2014. DOI 10.1016/j.ejogrb.2013.10.019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.10.019>.

KROON, Samuel J.; RAVEL, Jacques; HUSTON, Wilhelmina M. Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes. **Fertility and Sterility**, vol. 110, no. 3, p. 327–336, 2018. DOI 10.1016/j.fertnstert.2018.06.036. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.036>.

LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; DE MORAES FILHO, Manoel Odorico; COSTA, Bruno Almeida; ROHLEDER, Andréa Vieira Pontes; ROCHA, Marina Becker Sales; FECHINE, Francisco Vagnaldo; FORTE, Antonio Jorge; ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes; SILVA JÚNIOR, Francisco Raimundo; MARTINS, Camila Barroso; MATHOR, Mônica Beatriz; DE MORAES, Maria Elisabete Amaral. Innovative burn treatment using tilapia skin as a xenograft: A phase II randomized controlled trial. **Journal of Burn Care and Research**, vol. 41, no. 3, p. 585–592, 2020. <https://doi.org/10.1093/JBCR/IRZ205>.

MASHA, Simon; MOOSA, Yumna; KWON, Douglas; DE OLIVEIRA, Tulio; WONG, Emily B. Determinants of Vaginal Microbiota Composition. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org), vol. 1, p. 467, 2020. DOI 10.3389/fcimb.2020.00467. Available at: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org).

MCINDOE, A. H.; BANISTER, J. Bright. An Operation for the Cure of Congenital Absence of the Vagina. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, vol. 45, no. 3, p. 490–494, 1938. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1938.tb11141.x>.

MCQUILLAN, Sarah K.; GROVER, Sonia R. Dilation and surgical management in vaginal agenesis: A systematic review. **International Urogynecology Journal**, vol. 25, no. 3, p. 299–311, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00192-013-2221-9>.

MEZEI, Alex K.; ARMSTRONG, Heather L.; PEDERSEN, Heather N.; CAMPOS, Nicole G.; MITCHELL, Sheona M.; SEKIKUBO, Musa; BYAMUGISHA, Josaphat K.; KIM, Jane J.; BRYAN, Stirling; OGILVIE, Gina S. Cost-effectiveness of cervical cancer screening methods in low- and middle-income countries: A systematic review. **International Journal of Cancer**, vol. 141, no. 3, p. 437–446, 2017. <https://doi.org/10.1002/ijc.30695>.

MORA, Richard Mateo; MEHTA, Preeya; ZILTZER, Ryan; SAMPLASKI, Mary K. Systematic Review: The Neovaginal Microbiome. **Urology**, 8 Mar. 2022. DOI 10.1016/J.UROLOGY.2022.02.021. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429522001765>. Accessed on: 5 Apr. 2022.

MORTON, KAREN E.; DEWHURST, C. J. Human amnion in the treatment of vaginal malformations. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, vol. 93, no. 1, p. 50–54, 1986. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1986.tb07813.x>.

MOTOYAMA, Satoru; LAOAG-FERNANDEZ, Jovelle B.; MOCHIZUKI, Shinsuke;

YAMABE, Shingo; MARUO, Takeshi. Vaginoplasty with Interceed absorbable adhesion barrier for complete squamous epithelialization in vaginal agenesis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, vol. 188, no. 5, p. 1260–1264, 2003. <https://doi.org/10.1067/mob.2003.317>.

MOURA, Marcos D. de; FERRIANI, Rui Alberto; SÁ, Marcos Felipe S. de; WANDERLEY, Mirian S; LEITE, Stael P; SOARES, Fernando Augusto. Epitelização vaginal com membrana amniótica em neovaginoplastia / Vaginal epithelialization with amniotic membrana in neovaginoplasty. **Rev. bras. ginecol. obstet**, vol. 16, p. 135–40, 1994. .

MRUE, F. **Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex: estudo experimental em cães [dissertação]**. 1996. Universidade de São Paulo - RIBEIRÃO PRETO, 1996.

MUTHUSAMY, Swapna; VARGHESE, Jessy; RAVEENDRAN, Vinod; EZILARASAN, Kavitha; EASOW, Joshy Maducolil. Evaluation of interobserver reliability of Nugent score for diagnosis of bacterial vaginosis. 2018. DOI 10.4103/ijstd.IJSTD\_98\_16. Available at: [www.ijstd.org](http://www.ijstd.org). Accessed on: 12 Feb. 2022.

NAZ, Marzieh Saei Ghare; KARIMAN, Nourossadat; EBADI, Abbas; OZGOLI, Giti; GHASEMI, Vida; FAKARI, Farzaneh Rashidi. Educational interventions for cervical cancer screening behavior of women: A systematic review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, vol. 19, no. 4, p. 875–884, 2018. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.4.875>.

OZEK, CUNEYT; GURLER, TAHIR; ALPER, MEHMET; GUNDOGAN, HAKAN; BILKAY, UFUK; SONGUR, ECMEL; AKIN, YALCIN; CAGDAS, ARMAN. Modified McIndoe Procedure for Vaginal Agenesis. 1999. .

PETRICEVIC, Ljubomir; KAUFMANN, Ulrike; DOMIG, Konrad J.; KRALER, Manuel; MARSCHALEK, Julian; KNEIFEL, Wolfgang; KISS, Herbert. Molecular detection of Lactobacillus species in the neovagina of male-to-female transsexual women. **Scientific Reports**, vol. 4, no. April 2011, p. 6–9, 2014a. <https://doi.org/10.1038/srep03746>.

PETRICEVIC, Ljubomir; KAUFMANN, Ulrike; DOMIG, Konrad J.; KRALER, Manuel; MARSCHALEK, Julian; KNEIFEL, Wolfgang; KISS, Herbert. Rectal lactobacillus species and their influence on the vaginal microflora: A model of male-to-female transsexual women. **Journal of Sexual Medicine**, vol. 11, no. 11, p. 2738–2743, 2014b. <https://doi.org/10.1111/jsm.12671>.

PIAZZA, Mauri José. Estudo por microscopia eletrônica do epitélio de neovaginas confeccionadas com membrana amniótica e pesquisa de receptores para estrogênios. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, vol. 21, no. 5, p. 291–295, 1999. <https://doi.org/10.1590/s0100-72031999000500008>.

QIN, Chenglu; LUO, Guangnan; LUO, Xin; LIFSCHUTZ, Brian N.; ZHU, Ziwen; FANG, Yujiang. Analysis of the artificial vaginal microecology in patients after laparoscopic peritoneal vaginoplasty. **Scientific Reports**, vol. 9, no. 1, p. 3–7, 2019. DOI 10.1038/s41598-019-44511-w. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-44511-w>.

RAVEL, Jacques; BROTMAN, Rebecca M; GAJER, Pawel; MA, Bing; NANDY, Melissa; FADROSH, Douglas W; SAKAMOTO, Joyce; KOENIG, Sara Sk; FU, Li; ZHOU, Xia; HICKEY, Roxana J; SCHWEBKE, Jane R; FORNEY, Larry J. **M I C R O B I O M E A N N O U N C E M E N T Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis**. [S. l.: s. n.], 2013. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

RAVEL, Jacques; GAJER, Pawel; ABDO, Zaid; SCHNEIDER, G Maria; KOENIG, Sara S K; MCCULLE, Stacey L; KARLEBACH, Shara; GORLE, Reshma; RUSSELL, Jennifer; TACKET, Carol O; BROTMAN, Rebecca M; DAVIS, Catherine C; AULT, Kevin; PERALTA, Ligia; FORNEY, Larry J. Vaginal microbiome of reproductive-age women. 2011. DOI 10.1073/pnas.1002611107. Available at:

[www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1002611107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1002611107).

REIS, Rosana Maria. **Ginecologia da Infância e Adolescência**. [S. l.: s. n.], 2012.

ROBERTS, Carla P.; HABER, Michael J.; ROCK, John A. Vaginal creation for müllerian agenesis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, vol. 185, no. 6, p. 1349–1353, 2001. <https://doi.org/10.1067/mob.2001.119075>.

RODRÍGUEZ, Álvaro Hernán; LIMA JÚNIOR, Edmar Maciel; DE MORAES FILHO, Manoel Odorico; COSTA, Bruno Almeida; BRUNO, Zenilda Vieira; MONTEIRO FILHO, Marcelo Praxedes; AMARAL DE MORAES, Maria Elisabete; RODRIGUES, Felipe Augusto Rocha; PAIER, Carlos Roberto Koscky; BEZERRA, Leonardo Robson Pinheiro Sobreira. Male-to-Female Gender-Affirming Surgery Using Nile Tilapia Fish Skin as a Biocompatible Graft. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, vol. 27, no. 7, p. 1474–1475, 2020. DOI 10.1016/j.jmig.2020.02.017. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.jmig.2020.02.017>.

SÁ, Marcos Felipe Silva de; BARUFFI, I; CARDOSO NETO, A A; FERRIANI, Rui Alberto. Agenesia da vagina: correcao cirurgica pela tecnica de mcindoe. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, vol. 8, no. 4, p. 156–9, 1986. .

SADER, Soraya Lopes; COUTINHO NETTO, Joaquim; BARBIERI NETO, José; MAZZETTO, Sebastião Assis; ALVES JR., Paulo; VANNI, José Carlos; SADER, Albert Amim. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, vol. 15, no. 4, p. 338–344, 2000.

<https://doi.org/10.1590/s0102-76382000000400008>.

SILVA NETO, Jacinto Costa. **Citologia clínica do trato genital**. [S. l.: s. n.], 2020.

SLONGO, Helena; RICCETTO, Cassio L.Z.; JUNIOR, Marcos M.; BRITO, Luiz G.O.; BEZERRA, Leonardo R.P.S. Tilapia Skin for Neovaginoplasty after Sex Reassignment Surgery. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, vol. 27, no. 6, p. 1260, 2020. DOI 10.1016/j.jmig.2019.12.004. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2019.12.004>.

STEINER, Eric; WOERNLE, Friedemann; KUHN, Wather; BECKMANN, Karin; SCHMIDT, Marcus; PILCH, Henryk; KNAPSTEIN, Paul Georg. Carcinoma of the neovagina: Case report and review of the literature. **Gynecologic Oncology**, vol. 84, no. 1, p. 171–175, 2002. <https://doi.org/10.1006/gyno.2001.6417>.

TACHEDJIAN, Gilda; O'HANLON, Deirdre E.; RAVEL, Jacques. The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. **Microbiome**, vol. 6, no. 1, 2018. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0418-3>.

TORRES, ATS; LOPES, BB; SILVA, AM; DIAS, MTPM; BRUNO, ZV; NUNES, APN; LIMA JUNIOR, EM; DE MORAES FILHO, MO; PAIER, CRK; RODRIGUES, FAR; BEZERRA, LRPS. Neovaginoplasty with tilapia fish skin: a serie of eleven cases.

**International Urogynecology Journal**, 2022. .

TRELFORD, J. D.; HANSON, F. W.; ANDERSON, D. G. The feasibility of making an artificial vagina at the time of anterior exenteration. Case report. **Oncology**, vol. 28, no. 5, p. 398–401, 1973. <https://doi.org/10.1159/000224842>.

VODSTRCIL, Lenka A.; TWIN, Jimmy; GARLAND, Suzanne M.; FAIRLEY, Christopher K.; HOCKING, Jane S.; LAW, Matthew G.; PLUMMER, Erica L.; FETHERS, Katherine A.; CHOW, Eric P.F.; TABRIZI, Sepehr N.; BRADSHAW, Catriona S. The influence of sexual activity on the vaginal microbiota and Gardnerella vaginalis clade diversity in young women. **PLoS ONE**, vol. 12, no. 2, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171856>.

WEBHA S, CARVALHO CRN, FERREIRA JAS, Suda E. Ausência congênita de vagina: correção cirúrgica com peritônio pélvico. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, vol. 85, no. 1, p. 131–6, 1978. .

WEYERS, S.; LAMBEIN, K.; STURTEWAGEN, Y.; VERSTRAELEN, H.; GERRIS, J.; PRAET, M. Cytology of the “penile” neovagina in transsexual women. **Cytopathology**, vol.

21, no. 2, p. 111–115, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2009.00663.x>. WEYERS, Steven; VERSTRAELEN, Hans; GERRIS, Jan; MONSTREY, Stan; SANTIAGO, Guido dos Santos Lopes; SAERENS, Bart; DE BACKER, Ellen; CLAEYS, Geert; VANEECHOUTTE, Mario; VERHELST, Rita. Microflora of the penile skin-lined neovagina of transsexual women. **BMC Microbiology**, vol. 9, p. 1–10, 2009. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-102>.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### **Material didático voltado aos médicos e estudantes de medicina da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC)**

Cristiana Rodrigues Teófilo  
Leonardo Robson Pinheiro Sobreira Bezerra  
Zenilda Vieira Bruno  
Raquel Autran Coelho Peixoto

A síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKHS) caracteriza-se por agenesia uterina congênita e dos 2/3 superiores da vagina. Acomete 1 a cada 4500-5000 mulheres no mundo. A agenesia vaginal é tratável com dilatação ou cirurgia, podendo levar a uma função sexual normal. Apesar de evolução das técnicas cirúrgicas, há risco de cicatrizes abdominais ou inguinais, infecção e necrose do enxerto, além de tempo cirúrgico prolongado. Dessa forma, surgiu o interesse em utilizar pele de Tilápia do Nilo (PTN) na cirurgia para construção de neovagina, diminuindo o tempo de cirurgia e a morbidade pós-operatória, não necessitando de enxerto abdominal e, portanto, não deixando cicatriz. Além disso, a PTN é bastante disponível na natureza e apresenta baixo custo.

As amostras de citologia oncótica de mulheres com neovagina de PTN revelaram células escamosas sem atipias, evidenciando epitelização vaginal semelhante a vaginas de mulheres sem agenesia, com células escamosas superficiais, intermediárias e parabasais. Há relatos de achados de coilocitos e teste de HPV PCR positivo em estudos em pacientes com outras técnicas, e mesmo de carcinoma escamoso. Verrugas anogenitais foram também relatadas.

Há dados limitados sobre a composição e função do microbioma neovaginal de mulheres submetidas à neovagina. A microbiota vaginal das pacientes operadas pela técnica de PTN mostrou-se intermediária, em sua maioria, com presença de poucos bacilos visualizados na coloração por Gram. Este achado pode sugerir uma fase de adaptação da epitelização após a cirurgia. Mulheres submetidas a neovagina por outras técnicas apresentam composição variável de bacilos de Döderlein, muitas vezes com microbiota polimicrobiana

similar à vaginose bacteriana (VB). Vale ressaltar que a disbiose anaeróbica tem sido associada ao aumento da inflamação do trato genital e aumento do risco de aquisição de ISTs em mulheres.

Há ainda poucos dados sobre o impacto da duração pós-cirúrgica, uso de hormônios orais, dilatação, práticas sexuais ou realização de duchas no microbioma neovagina. Estudos futuros deverão avaliar também os efeitos na ingestão oral de certas cepas (probióticas) de lactobacilos sobre a microbiota de mulheres submetidas à cirurgia de neovagina, ajudando a estabilizar uma microbiota vaginal saudável. Compreender os mecanismos de fatores relacionados ao hospedeiro e micro-organismos é essencial para uma intervenção eficaz, sendo possível o tratamento de infecções, diminuindo os riscos de outras doenças infecciosas e possíveis complicações obstétricas.

Devido à falta de diretrizes baseadas em evidências, as recomendações de cuidados neovaginais variam substancialmente entre os centros como por exemplo quanto à frequência de dilatação no pós-operatório, à recomendação de lubrificantes, duchas vaginais e outros produtos de higiene. Como as lesões HPV-induzidas podem se desenvolver na neovagina, as pacientes devem ser submetidas a programas de rastreamento do câncer.

Há necessidade da continuidade de estudos para aprimorar os conhecimentos sobre a neovagina com PTN e avaliar tanto a microbiota como o microbioma vaginal, pois serão de suma importância para a melhoria da saúde dessas pacientes, possibilitando tratamento e prevenção de doenças associadas.

## Referências

- Birse KD, Kratzer K, Zuend CF, Mutch S, Noël-Romas L, Lamont A, et al. The neovaginal microbiome of transgender women post-gender reassignment surgery. *Microbiome*. 2020;8(1):61.
- Callens N, De Cuyper G, De Sutter P, Monstrey S, Weyers S, Hoebeke P, Cools M. An update on surgical and non-surgical treatments for vaginal hypoplasia. *Hum Reprod Update*. 2014;20(5):775-801.
- de Vrese M, Laue C, Papazova E, Petricevic L, Schrezenmeir J. Impact of oral administration of four *Lactobacillus* strains on Nugent score - systematic review and meta-analysis. *Benef Microbes*. 2019;10(5):483-496.
- Dias MTPM, Bilhar APM, Rios LC, Costa BA, Duete ÚR, Lima Júnior EM, et al. Neovaginoplasty for radiation-induced vaginal stenosis using Nile Tilapia Fish Skin as a biological graft. *J Surg Case Rep*. 2019;2019(11):rjz311.
- Dias MTPM, Bilhar APM, Rios LC, Costa BA, Lima Júnior EM, Alves APNN, 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*. 2020;27(4):966-972.
- Fein LA, Marbin SJ. Condylomata acuminata of the neovagina in a transgender woman treated with trichloroacetic acid. *Int J STD AIDS*. 2020;31(10):1011-1013.

Grosse A, Grosse C, Lenggenhager D, Bode B, Camenisch U, Bode P. Cytology of the neovagina in transgender women and individuals with congenital or acquired absence of a natural vagina. *Cytopathology*. 2017;28(3):184-191.

Hayashida SA, Soares JM Jr, Costa EM, da Fonseca AM, Maciel GA, Mendonça BB, Baracat EC. The clinical, structural, and biological features of neovaginas: a comparison of the Frank and the McIndoe techniques. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015;186:12-6.

Kroon SJ, Ravel J, Huston WM. Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes. *Fertil Steril*. 2018;110(3):327-336.

Lima Junior EM, TdJPG Bandeira, Miranda MJB, et al. Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. *J Heal Biol Sci*. 2016;4:193–197

Mora RM, Mehta P, Ziltzer R, Samplaski MK. Systematic Review: The Neovaginal Microbiome. *Urology*. 2022;S0090-4295(22)00176-5.

Panici PB, Ruscito I, Gasparri ML, Maffucci D, Marchese C, Bellati F. Vaginal reconstruction with the Abbè-McIndoe technique: from dermal grafts to autologous in vitro cultured vaginal tissue transplant. *Semin Reprod Med*. 2011;29:45–54.

Petricevic L, Kaufmann U, Domig KJ, Kraler M, Marschalek J, Kneifel W, et al. Molecular detection of *Lactobacillus* species in the neovagina of male-to-female transsexual women. *Sci Rep*. 2014;4:3746.

Qin C, Luo G, Luo X, Lifschutz BN, Zhu Z, Fang Y. Analysis of the artificial vaginal microecology in patients after laparoscopic peritoneal vaginoplasty. *Sci Rep*. 2019;9(1):8482.

Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7.

Rodríguez ÁH, Lima Júnior EM, de Moraes Filho MO, Costa BA, Bruno ZV, Monteiro Filho MP, et al. Male-to-Female Gender-Affirming Surgery Using Nile Tilapia Fish Skin as a Biocompatible Graft. *J Minim Invasive Gynecol*. 2020;27(7):1474-1475.

Steiner E, Woernle F, Kuhn W, Beckmann K, Schmidt M, Pilch H, et al. Carcinoma of the neovagina: case report and review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2002;84(1):171-5.

## ANEXO 2

### **Artigo científico a ser enviado para revista**

#### **Neovaginoplasty with Nile tilapia skin: cytological and microbiota evaluation**

##### ABSTRACT

Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome (MRKHS) is the second most common cause of primary amenorrhea. Neovaginoplasty is a suitable treatment option for patients who failed or denied dilation therapy. In search of accessible materials with a low risk of complications, Nile tilapia fish skin (NTFS) has been proposed as an innovative biomaterial for vaginal agenesis management. NTFS has a non-infectious microbiota, a morphological structure comparable to that of the human skin, and high in vivo bioresorption. Objective: To evaluate the clinical, cytological, and vaginal microbiota findings in patients with MRKHS who underwent neovaginoplasty using NTFS. Methods: In this descriptive cross-sectional study, vaginal specimens were obtained from seven cisgender women with MRKHS who underwent neovaginoplasty using NTFS between August 2019 and November 2021. Conventional oncotic cytology, hormonal cytology, and Gram staining of vaginal fluid were performed with colposcopy within 12 to 24 months after surgery. The Nugent scores were calculated. Results: Squamous cells without atypia were found in all seven patients. Five patients had intermediate vaginal microbiota (Nugent score of 4), which was determined by the presence of few lactobacilli on Gram staining. In hormonal cytology, four patients presented with findings compatible with menacme. No colposcopic change was observed. When postsurgical dilation was performed correctly, a mean vaginal length of 8.3 cm was maintained after one year of follow-up. Conclusions: Squamous cells without atypia were present in neovaginas with PTN. Most vaginal contents revealed intermediate microbiota and hormonal results compatible with menacme. Studies with a greater number of patients are necessary for a more comprehensive understanding of the microbiome in neovaginas with NTFS, thereby providing support for the treatment and prevention of associated pathologies.

Keywords: Vagina. Tilapia. Microbiota. Papanicolaou Test.

## INTRODUCTION

Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome (MRKHS) is characterized by congenital uterine agenesis and agenesis of the upper two-thirds of the vagina. It affects one in 4500–5000 women worldwide<sup>1</sup>. Vaginal agenesis can be treated with dilation or surgery and may lead to normal sexual function. Surgery is the option of choice for patients who are poorly compliant or for those who have denied dilation treatment<sup>2,3</sup>.

Several suitable biomaterials are available for this procedure, such as amnion, skin grafts, myocutaneous flaps, peritoneum, and different colon segments. Despite the evolution of surgical techniques, there is still a risk of abdominal or inguinal scarring, infection, and graft necrosis. In addition, considerable surgical time is necessary, and the skin allograft preserves most of its original hair-bearing characteristic<sup>1,3-6</sup>.

Therefore, the development of an alternative cost-effective and easily-applied material can ensure better management of women with MRKHS. Nile tilapia fish skin (NTFS) has noninfectious microbiota<sup>7</sup>, morphologic structure similar to human skin<sup>8</sup>, and high in vivo bioresorption<sup>9</sup>. In addition, NTFS showed good outcomes when used as a xenograft for burn treatment<sup>10-11</sup>. It provides an anatomical and functional vagina for women with agenesis, with high success and low morbidity rates<sup>12</sup>. Use of NTFS as an option for a new biological graft for neovagina construction has gathered interest. Since the procedure does not require an abdominal graft, operation time and postoperative morbidity are reduced. In addition, NTFS is inexpensive and widely available in nature<sup>13-15</sup>.

The predominance of lactobacilli in vaginal microbiota seems to be protective against infections, whereas dysbiosis with highly diverse microorganisms and without dominant lactobacilli present a higher risk of infections and obstetric complications<sup>16</sup>. In addition to lactic acid, the beneficial properties of *Lactobacillus spp.* are associated with production of bacteriocins (antimicrobial compounds), adherence to vaginal epithelia (competitive exclusion of other bacteria), and ability to competitively use available nutrients<sup>17-18</sup>.

Neovaginal construction can be achieved using various tissues. These microenvironments have both unique advantages and disadvantages. A patient was considered positive for bacterial vaginosis (BV) if they met either Amsel's criteria or had a Nugent score of 7–10. To meet Amsel's criteria, a patient must have at least three of the following: clue cells, gray discharge, pH > 4.5, and positive KOH whiff test result. There are no specific instructions for treating neovaginal BV; however,

it has been associated with increased susceptibility to sexually transmitted infections (STIs). Neovaginal BV is of particular concern, as it may impair mucosal integrity and predispose to STIs<sup>19</sup>.

Among STIs, human papilloma virus (HPV) infection is associated with cancer of the lower genital tract. Other risk factors for these tumors include sexual initiation at a young age, history of STIs, multiple sexual partners, use of contraceptive methods, smoking, parity, and chronic immunosuppression<sup>20</sup>.

Vaginal microbiota can show changes in composition according to the stages of a woman's life, such as childhood, puberty, pregnancy, and menopause. Ovarian hormones act on the vaginal epithelium and produce cyclic hormonal maturation at the menacme. However, some factors can temporarily determine alteration of the microbiota, such as the use of vaginal douches, medications (e.g., antibiotics), and phases of the menstrual cycle<sup>21</sup>.

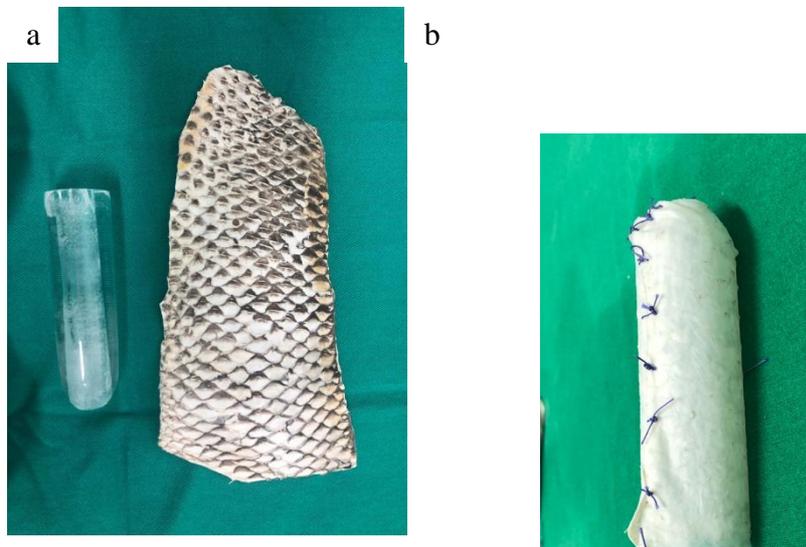
The study of the microbiota and cytological aspects of patients undergoing the new neovaginoplasty technique makes it possible to assess the risks of posterior vaginal infections and cancer of the lower genital tract. This study aimed to evaluate the clinical, cytological, and microbiota characteristics of patients with MRKHS who underwent neovaginoplasty using NTFS.

## METHODS

Between August 2019 and November 2021, a descriptive cross-sectional study was conducted on patients diagnosed with MRKHS who underwent a modified McIndoe vaginoplasty procedure with NTFS at the Maternity School Assis Chateaubriand, a tertiary hospital linked to the Federal University Ceará, in the city of Fortaleza-CE, Brazil. The patent for NTFS is registered at the National Institute of Industrial Property under number BR1020150214359.

The procedure consisted of performing a 3-cm incision in the vaginal sulcus, blunt dissection in a straight vesical plane, and opening of a virtual space, where an acrylic mold covered with NTFS was introduced. The cylindrical acrylic mold, which measured 9 cm in length and 3 cm in diameter, was fixed to the labia majora with a polyglactin 910 suture thread<sup>10,14</sup> (Figure 1). A unit of NTFS measuring  $5.1 \times 7.6 \text{ cm}^2$  was used for each patient, which served as the neovaginal wall lining. Each participant had primary amenorrhea and had normal secondary sex characteristics.

Figure 1: a. Nile tilapia fish skin (NTFS) and the acrylic vaginal mold; b: Accommodation of NTFS in an acrylic mold.



After the procedure, the patients were invited for periodic outpatient consultations where aesthetic and functional results of the neovagina were evaluated through guided anamnesis and a thorough physical examination. They received regular recommendations for mold use. Between 12 and 24 months after surgery, anamnesis, physical examination, colposcopy, bacterioscopy, and cytopathological examination were performed. Bacterioscopy was carried out by collecting a small sample of vaginal contents from the cul-de-sac with a cotton swab and an Ayre spatula was used for cytopathological examination. During anamnesis, patients' sexual orientation and practices were evaluated, in addition to presence of genital symptoms.

The collected material was sent to the laboratory and subjected to Gram bacterioscopy. Likewise, cytopathological study for cancer prevention (Pap smear) was performed and hormonal cytology calculation (maturation index and cell maturation value) was determined by counting squamous cells with normal morphology.

The maturation value was obtained by multiplying the percentage of each of the cells with a constant and obtaining the sum of all cells. In menacme, the expected values for maturation are approximately 60–90<sup>22</sup>. The Nugent scores were calculated. Data was categorized using Microsoft Excel for descriptive statistical analysis of the variables.

This study was approved by the ethics and research committee of the institution. All the patients signed an informed consent for the study.

## RESULTS

Seven patients, aged 18 to 36 years, were evaluated (mean age, 23 years). Among the patients, three (40%) were not sexually active. One patient reported a homosexual orientation (14%) (Table 1).

One patient reported symptoms of increased vaginal discharge and foul odor. Bacterioscopy identified bacterial vaginosis, which resolved after treatment with oral metronidazole.

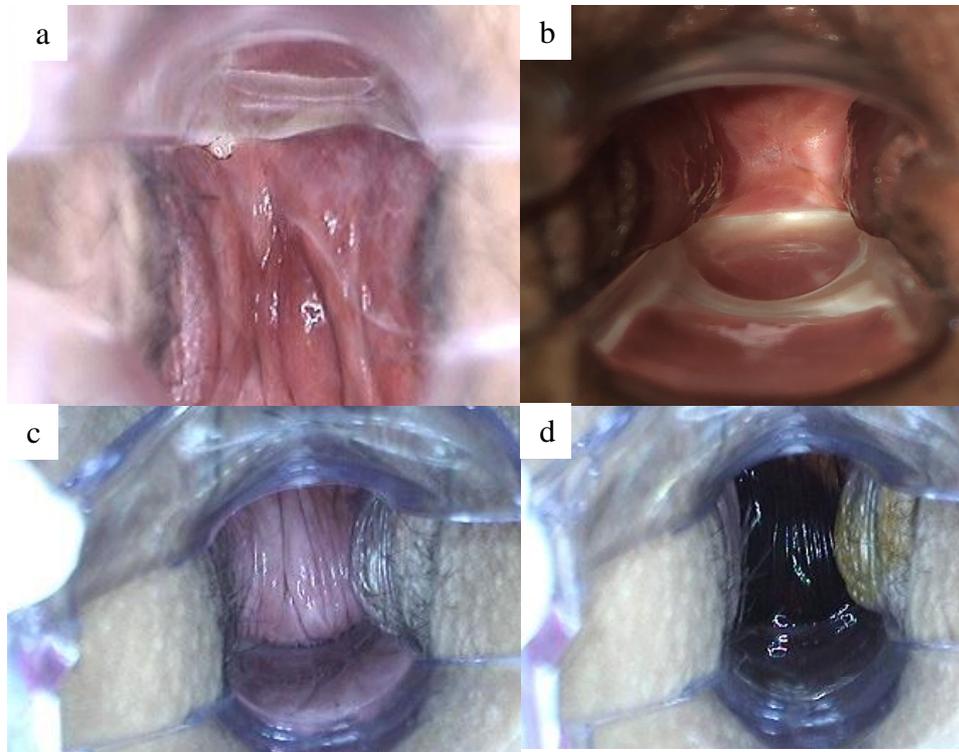
Table 1: Clinical characteristics of women undergoing vaginal reconstruction with Nile tilapia skin

	1	2	3	4	5	6	7
Age (years)	20	19	19	24	36	18	26
Sexual life	YES	NO	NO	YES	YES	NAO	YES
Mold use after surgery	YES	YES	NO	YES	YES	YES	YES
Sexual orientation	Heterosexual	Heterosexual	Homosexual	Heterosexual	Heterosexual	Heterosexual	Heterosexual
Total vaginal length (cm)	9	10	5	9	9	7	9

The average vaginal length after neovaginoplasty with NTFS was 8.3 cm (mode, 9 cm; range 5–10 cm).

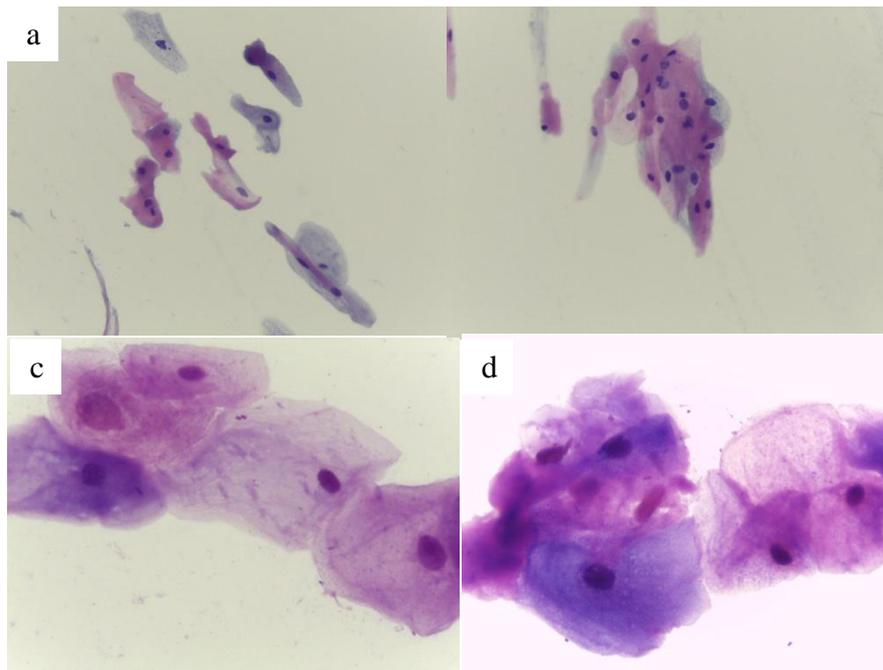
Before application of acetic acid and Lugol's solution during colposcopy, we observed epithelialized mucosa throughout the extent of the vaginal wall. A granuloma was visualized in the vaginal vault of one patient. We used 3% acetic acid on all patients with no evidence of an acetowhitening reaction. Lugol staining was satisfactory in all patients, with a negative Schiller test result (Figure 2).

Figure 2: Colposcopic examination of patients with Nile tilapia fish skin (NTFS) neovagina 12 to 24 months after surgery (a-c: acetic acid test; d: Schiller test)



Cytopathological examination revealed squamous cells without atypia in all the samples. (Figure 3).

Figure 3: Squamous cells visualized in cytopathological examination of Nile tilapia fish skin (NTFS) neovagina



The calculations during evaluation of hormonal cytology revealed a score range of 35 to 80, with one sample being deemed unsatisfactory for analysis. Most patients had hormonal cytology compatible with menacme (four patients).

The microbiota was intermediate in five patients, with a Nugent score of 4. The two remaining patients had microbiota suggestive of BV, with a Nugent score of 8 (Table 2). There was a predominance of gram-negative and gram-positive cocci on bacterioscopy (Figure 4).

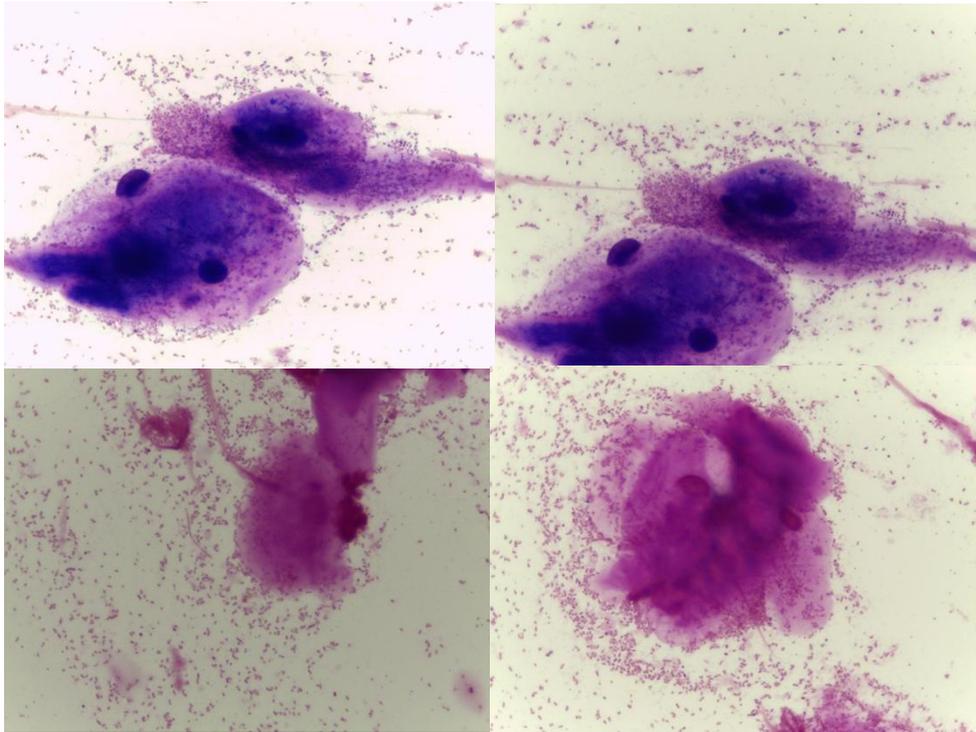
Table 2: Results of cytopathological examination, Gram bacterioscopy, and hormonal cytology performed on women who underwent vaginal reconstruction with Nile tilapia fish skin

Patient	1	2	3	4	5	6	7
Citology	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
Squamous cells	+	+	+	+	+	+	+
Leukocytes	-	+++	+	++	++	++	+
Nugent score	4	4	4	8	4	4	8
Hormonal cytology	70	Unsatisfactory	35	70	74	50	80

Figure 4: Gram stain of bacterioscopy taken from neovagina patients with Nile tilapia fish skin

a

b



## DISCUSSION

Clinical, cytological, and microbiota characteristics were evaluated in patients with MRKHS after one to two years of neovaginoplasty using NTFS. There are limited data on cytology, composition, and function of the neovaginal microbiome, which represents a large gap in the knowledge pool on neovaginal health, especially for cisgender women<sup>23</sup>. The vaginal microbiota of the patients in this study was mostly intermediate because of the presence of a few bacilli visualized by Gram staining. In general, vaginal microbiota is described as normal when there is a predominance of *Lactobacillus spp.* This finding suggests an adaptation phase for epithelialization after surgery. Although the Nugent score is considered the gold standard, attention should be directed to the fact that intermediate microbiota is not well-characterized, making it challenging to diagnose BV. In addition, morphotypic identification is examiner-dependent and is influenced by experience and individual skills<sup>24</sup>.

Different surgical approaches and graft tissues can result in the formation of different microenvironments following neovaginal construction. These microenvironments can be affected by hormone levels, sexual habits, and time elapsed since surgery. Dysbiosis (non-*Lactobacillus* dominant polymicrobial colonization) is common in the neovaginal microenvironment, although its exact incidence and that of *Lactobacillus* colonization are unknown. Generally, neovaginal microflora

reflects that of its native tissue<sup>6</sup>. It is noteworthy that anaerobic dysbiosis has been linked to increased inflammation of the genital tract and an increased risk of acquiring STIs in women.

The vaginoplasty technique with the most available microbiota data is the penile flap inversion. The most common species identified were *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus anginosus*, and *Lactobacillus spp*<sup>25-26</sup>. Generally, transgender women who undergo this technique have a mixed microbiota similar to BV as well as host responses, including increased immune activation pathways and decreased epithelial barrier function. The native penile skin microbiota is colonized by a similar bacterial population<sup>23,25</sup>. Weyers et al. (2009)<sup>25</sup> evaluated the samples using microscopy and suggested that the patients in their study had estrogen levels similar to those of postmenopausal women, which was not a suitable medium for growth of lactobacilli. Evaluation of samples by molecular biology has identified lactobacilli in approximately 75% of patients<sup>26</sup>.

The sigmoid neovaginal microbiome contains *E. coli*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, and other anaerobes. *E. coli* and *Bacteroides* were observed much more frequently in sigmoid neovaginas than in penile neovaginas, probably because of their prevalence in the colon<sup>27</sup>. The peritoneal and McIndoe's vaginoplasty microbiome also showed polymicrobial predominance with absence of estrogenic activity<sup>28-29</sup>. Normally, the peritoneum has a low bacterial count as it remains sterile from the external environment<sup>29</sup>. The Frank technique revealed the presence of Döderlein bacilli in most neovaginas<sup>28</sup>. In a study of a variety of neovaginas, swab-based inflammation was seen in 40% of specimens, specifically 15% from penile inversion, 15% from sigmoid, and 10% from skin-grafted neovaginas<sup>30</sup>. Compared to cisgender controls, neovaginas of transgender women exhibited a higher degree of proinflammatory response, which has been correlated with a polymicrobial, BV-like state<sup>23</sup>. It is noteworthy that there are other factors related to surgical sex change, such as neovaginal tissue with its immunological properties and other factors related to bacterial adhesion<sup>25</sup>.

A recent systematic review that included 458 patients who underwent neovaginal construction by grafting of penile skin, sigmoid segments, and peritoneal grafts identified polymicrobial microflora with presence of *Lactobacillus spp.*, which suggested the capacity of microbial proliferation by innate origin, rectal migration, or even oral supplementation with probiotics. Nine of the 13 studies observed a polymicrobial environment comparable to that of BV<sup>6</sup>. There is still a paucity of data on the impact of postsurgical duration, use of oral hormones, dilation, sexual practices, and hygiene activities such as showering on the neovaginal microbiome<sup>23</sup>. Qin et al. (2019)<sup>29</sup> demonstrated that the initially observed vaginal dysbiosis after laparoscopic peritoneal vaginoplasty gradually became normal over time.

Microbial colonization of the vagina and neovagina occurs under different conditions. The composition of early microbial communities in the vagina, intestines, and other habitats of infants are similar to that of the maternal gut, vagina, and skin microbiota, depending on the manner the baby was delivered (vaginal or via cesarean section). During adolescence, substantial changes occur in the composition of the vaginal microbiota, which is driven by an increase in estrogen level and an increase in lactic acid-producing bacteria, particularly lactobacilli<sup>31</sup>.

Through molecular sequencing of different communities of vaginal microorganisms, the species of lactobacilli most commonly found in the vagina are *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners*, and *Lactobacillus jensenii*<sup>16,32</sup>. Five communities (CSTs)–I, II, III, IV, and V–were described and showed predominance of *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners*, *L. jensenii*, polymicrobial microbiota with facultative anaerobes, and a few other lactobacilli. The frequency of these CSTs differ among different ethnic backgrounds and geographical origins<sup>16,33</sup>. Moreover, some vaginal microbial communities transition between CSTs, most frequently toward CST IV<sup>34</sup>.

Twelve months after surgery, a vaginal length of 9 cm was observed in most of the patients in this study. Most participants had an active hetero-affective sex life. Another study on NTFS, which involved 11 patients, revealed an average vaginal length of 8 cm in patients who were correctly using the vaginal mold continuously 12 months after surgery<sup>12</sup>. During colposcopy, there was no evidence of acetowhitening reaction and all patients presented with diffuse staining with Lugol's solution.

Evaluation of the effects of oral ingestion of lactobacilli preparations on the neovaginal microbiota had shown variable results in subsequent Nugent scores<sup>35</sup>. Conventional definitions of dysbiosis may not apply to the neovagina, particularly because many neovaginal patients are asymptomatic. Several studies have identified small subsets of symptomatic patients who presented with dyspareunia, foul odor, and dysuria; the management of these patients was handled on an individual basis. Further research is needed to establish a standard definition of dysbiosis in the neovagina and identify the patients that should be treated<sup>6</sup>. Understanding the mechanisms of factors related to the host and microorganisms is essential to treat infections, reduce the risk of acquiring other infectious diseases, and prevent possible obstetric complications<sup>16</sup>.

Oncotic cytology samples collected from neovaginas in this study revealed varied squamous cells in all patients, including superficial, intermediate, and parabasal squamous cells, similar to that of natural vaginas. Weyers et al. (2010)<sup>36</sup> performed cytopathological examination of penile skin flap neovaginoplasty in 50 patients and found well-preserved squamous cells in 72%, lactobacilli in 4%,

and inflammatory cells in 22% of the patients. They also observed koilocytes in one of the patients with a positive HPV polymerase chain reaction test, resulting in a low-grade intraepithelial lesion. Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) were found in 8% of the patients, but with negative HPV results. Other studies reported HPV-induced vaginal lesions and squamous cell carcinoma after neovaginal surgeries<sup>30,37,38</sup>.

Anogenital warts have been reported in transgender women after sex-affirming surgery using penile inversion. The penile and scrotal tissues used in this study seemed to be associated with higher rates of HPV infection. It was unknown whether neovaginal warts arose from a previously infected skin graft or from contact between the neovagina and HPV through coitus<sup>39</sup>.

Considering the adequate epithelialization with squamous cells in all patients in this study and findings from similar studies, we realized the significance of studying the microbiota of neovaginoplasty patients in determining the presence of infectious conditions, including sexually transmitted infections that could be precursors of malignancy. Because HPV-induced lesions can develop in the neovagina, patients should undergo cancer screening.

There is still a paucity of data on the practices that promote an ideal neovaginal microenvironment, both in the immediate postoperative period and in long-term care, including hygiene practices. Neovaginal care recommendations vary substantially between centers, such as frequency of postoperative dilation, recommendation of lubricants and vaginal douches, and promotion of other hygiene products. The inflammatory response associated with the diverse microflora is an important consideration and warrants further investigation, as this may predispose to pain or infection. Standardized treatment protocols specific to patients with neovaginas are needed for the management of neovaginal pathologies such as BV.

This study had limitations because it evaluated patients who underwent neovaginoplasty with NTFS, a novel graft innovation in the field of neovaginal construction. Hence, only a small number of patients have undergone the procedure until 2020. To date, we have not been able to muster a sample of sufficient statistical power to perform a structured analysis. Another limitation of the study was the irregular periodic follow-up of patients. This was mainly due to geographical limitations as some of the patients came from different regions of Brazil and did not always have the monetary and structural capacity to support the trip. In addition, owing to movement restrictions brought about by the COVID-19 pandemic, samples were not collected from two patients in the first year of the study. Thus, the proposed follow-up schedule in the methodology was not strictly followed.

In this study, most patients had a vaginal length of 9 cm one year after neovaginoplasty surgery. Cytopathological examination revealed squamous cells without cellular atypia or malignancy in all patients. Hormonal cytology findings were compatible with menacme in most patients. The microbiota composition was mostly intermediate (Nugent 4), suggesting a transitory environment or postsurgical adaptation. Further studies with larger populations are required.

## REFERÊNCIAS

1. Herlin MK, Petersen MB, Brännström M. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome: a comprehensive update. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):214.
2. McQuillan SK, Grover SR. Dilation and surgical management in vaginal agenesis: a systematic review. *Int Urogynecol J.* 2014;25(3):299-311.
3. Cheikhelard A, Bidet M, Baptiste A, Viaud M, Fagot C, Khen-Dunlop N, et al. Surgery is not superior to dilation for the management of vaginal agenesis in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: a multicenter comparative observational study in 131 patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;219(3):281.e1-281.e9.
4. Callens N, De Cuyper G, De Sutter P, Monstrey S, Weyers S, Hoebeke P, et al. An update on surgical and non-surgical treatments for vaginal hypoplasia. *Hum Reprod Update.* 2014;20(5):775-801.
5. Panici PB, Ruscito I, Gasparri ML, Maffucci D, Marchese C, Bellati F. Vaginal reconstruction with the Abbè-McIndoe technique: from dermal grafts to autologous in vitro cultured vaginal tissue transplant. *Semin Reprod Med.* 2011;29:45-54.
6. Mora RM, Mehta P, Ziltzer R, Samplaski MK. Systematic Review: The Neovaginal Microbiome. *Urology.* 2022:S0090-4295(22)00176-5.
7. Lima Júnior EM, Bandeira TDJPG, de Miranda MJB, Ferreira GE, Parente EA, Piccolo NS, et al. Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. *J Heal Biol Sci.* 2016;4(3):193-197.
8. Alves APNN, Lima Júnior EM, Piccolo NS, de Miranda MJB, Lima Verde MEQ, Ferreira Júnior AEC, et al. Study of tensiometric properties, microbiological and collagen content in Nile tilapia skin submitted to different sterilization methods. *Cell Tissue Bank.* 2018;19(3):373-382.
9. Sugiura H, Yunoki S, Kondo E, Ikoma T, Tanaka J, Yasuda K. In vivo biological responses and bioresorption of tilapia scale collagen as a potential biomaterial. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2009;20:1353-1368.
10. Costa BA, Lima Júnior EM, de Moraes Filho MO, et al. Use of tilapia skin as a xenograft for pediatric burn treatment: a case report. *J Burn Care Res.* 2019;40:714-717.
11. Lima Júnior EM, De Moraes Filho MO, Costa BA, Rohleder AVP, Sales Rocha MB, Fachine FV, et al. Innovative Burn Treatment Using Tilapia Skin as a Xenograft: A Phase II Randomized Controlled Trial. *J Burn Care Res.* 2020;41(3):585-592.
12. Torres ATS, Lopes BB, Silva AM, Dias MTPM, Bruno ZV, Nunes APN, Junior EML, de Moraes Filho MO, Paier CRK, Rodrigues FAR, Bezerra LRPS. Neovaginoplasty with tilapia fish skin: a series of eleven cases. *Int Urogynecol J.* 2022. doi: 10.1007/s00192-022-05150-4. Online ahead of print.
13. Dias MTPM, Bilhar APM, Rios LC, Costa BA, Duete ÚR, Lima Júnior EM, et al. Neovaginoplasty for radiation-induced vaginal stenosis using Nile Tilapia Fish Skin as a biological graft. *J Surg Case Rep.* 2019;2019(11):rjz311.

14. Dias MTPM, Bilhar APM, Rios LC, Costa BA, Lima Júnior EM, Alves APNN, 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.* 2020;27(4):966-972.
15. Rodríguez ÁH, Lima Júnior EM, de Moraes Filho MO, Costa BA, Bruno ZV, Monteiro Filho MP, et al. Male-to-Female Gender-Affirming Surgery Using Nile Tilapia Fish Skin as a Biocompatible Graft. *J Minim Invasive Gynecol.* 2020;27(7):1474-1475.
16. Moosa Y, Kwon D, de Oliveira T, Wong EB. Determinants of Vaginal Microbiota Composition. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:467.
17. Breshears LM, Edwards VL, Ravel J, Peterson ML. *Lactobacillus crispatus* inhibits growth of *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* on a porcine vaginal mucosa model. *BMC Microbiol* 2015;15:276.
18. Tachedjian G, O'Hanlon DE, Ravel J. The implausible "in vivo" role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome.* 2018;6(1):29.
19. Zevin AS, Xie IY, Birse K, Arnold K, Romas L, Westmacott G, et al. Microbiome Composition and Function Drives Wound-Healing Impairment in the Female Genital Tract. *PLoS Pathog.* 2016 Sep 22;12(9):e1005889.
20. Brousseau EC, Ahn S, Matteson KA. Cervical Cancer Screening Access, Outcomes, and Prevalence of Dysplasia in Correctional Facilities: A Systematic Review. *J Womens Health (Larchmt).* 2019;28(12):1661-1669.
21. Kalia N, Singh J, Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2020;19(1):5.
22. Gupta S, Kumar N, Singhal N, Manektala U, Jain S, Sodhani P. Cytohormonal and morphological alterations in cervicovaginal smears of postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Diagn Cytopathol.* 2006;34(10):676-81.
23. Birse KD, Kratzer K, Zuend CF, Mutch S, Noël-Romas L, Lamont A, et al. The neovaginal microbiome of transgender women post-gender reassignment surgery. *Microbiome.* 2020;8(1):61.
24. Abou Chacra L, Fenollar F, Diop K. Bacterial Vaginosis: What Do We Currently Know? *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;11:672429.
25. Weyers S, Verstraelen H, Gerris J, Monstrey S, Santiago Gdos S, Saerens B, et al. Microflora of the penile skin-lined neovagina of transsexual women. *BMC Microbiol.* 2009;9:102.
26. Petricevic L, Kaufmann U, Domig KJ, Kraler M, Marschalek J, Kneifel W, et al. Rectal *Lactobacillus* species and their influence on the vaginal microflora: a model of male-to-female transsexual women. *J Sex Med.* 2014;11(11):2738-43.
27. Kim SK, Jeong JO, Kwon YS, Lee KC, Park KJ, Jung G. Laparoscopic rectosigmoid flap vaginoplasty. *J Plast Surg Hand Surg.* 2011;45(4-5):226-31.
28. Hayashida SA, Soares JM Jr, Costa EM, da Fonseca AM, Maciel GA, Mendonça BB, et al. The clinical, structural, and biological features of neovaginas: a comparison of the Frank and the McIndoe techniques. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;186:12-6.
29. Qin C, Luo G, Luo X, Lifschutz BN, Zhu Z, Fang Y. Analysis of the artificial vaginal microecology in patients after laparoscopic peritoneal vaginoplasty. *Sci Rep.* 2019;9(1):8482.
30. Grosse A, Grosse C, Lenggenhager D, Bode B, Camenisch U, Bode P. Cytology of the neovagina in transgender women and individuals with congenital or acquired absence of a natural vagina. *Cytopathology.* 2017;28(3):184-191.
31. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One.* 2013;8(11):e78331.
32. Kalia N, Singh J, Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2020;19(1):5.
33. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:4680-7.

34. Ravel J, Brotman RM, Gajer P, Ma B, Nandy M, Fadrosch DW, et al. Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis. *Microbiome* 2013;1:29.
35. Kaufmann U, Domig KJ, Lippitsch CI, Kraler M, Marschalek J, Kneifel W, et al. Ability of an orally administered lactobacilli preparation to improve the quality of the neovaginal microflora in male to female transsexual women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;172(1):102-5.
36. Weyers S, Lambein K, Sturtewagen Y, Verstraelen H, Gerris J, Praet M. Cytology of the 'penile' neovagina in transsexual women. *Cytopathology.* 2010;21(2):111-5.
37. Frega A, Scirpa P, Sopracordevole F, Biamonti A, Bianchi P, De Sanctis L, et al. Impact of human papillomavirus infection on the neovaginal and vulval tissues of women who underwent surgical treatment for Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Fertil Steril.* 2011;96(4):969-73.
38. Steiner E, Woernle F, Kuhn W, Beckmann K, Schmidt M, Pilch H, et al. Carcinoma of the neovagina: case report and review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2002;84(1):171-5.