

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA PAULA CARVALHO DE ARAÚJO

**COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL FEMININA: UM ESTUDO  
LABORATORIAL SOBRE OS PRINCIPAIS PATÓGENOS CAUSADORES DE  
VAGINITE BACTERIANA**

BRASÍLIA - DF  
2022

ANA PAULA CARVALHO DE ARAÚJO

**COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL FEMININA: UM ESTUDO LABORATORIAL SOBRE OS PRINCIPAIS PATÓGENOS CAUSADORES DE VAGINITE BACTERIANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UnB) como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília.

**Orientadora:** Profa. Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega  
**Co-orientador:** Profa. Dra. Livia Custódio Pereira

BRASÍLIA - DF  
2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

### Ficha Catalográfica

C: Carvalho de Araújo, Ana Paula  
COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL FEMININA. UM ESTUDO  
LABORATORIAL SOBRE OS PRINCIPAIS PATÓGENOS CAUSADORES DE  
VAGINITE BACTERIANA / Ana Paula Carvalho de Araújo,  
orientador Yanna Karla de Medeiros Nóbrega, co-orientador  
Ferreira Lívia Custódio. -- Brasília, 2022.  
64 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências  
Farmacêuticas) -- Universidade de Brasília, 2022.

1. vaginite bacteriana. 2. vaginite citolítica. 3.  
Lactobacillus spp.. 4. Community State Types. 5. Microbiota  
vaginal. I. Karla de Medeiros Nóbrega, Yanna, orient. II.  
Lívia Custódio, Ferreira, co-orient. III. Título.

**ANA PAULA CARVALHO DE ARAÚJO**

**COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL FEMININA: UM ESTUDO LABORATORIAL SOBRE OS PRINCIPAIS PATÓGENOS CAUSADORES DE VAGINITE BACTERIANA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília.

Aprovada em 11 de maio de 2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Yanna Karla de Medeiros Nóbrega (UnB) - Presidente

---

Profa. Dra. Fabiana Brandão Alves Silva (UnB) – Membro Externo

---

Profa. Dra. Adriana Bittencourt Campaner (FCMSC-SP) – Membro Externo

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha orientadora e professora, Yanna, que acreditou e confiou no meu potencial. Me abriu portas para o mundo da pesquisa ainda na faculdade e soube me conduzir da melhor forma possível nessa jornada. Obrigada pelo carinho, paciência e principalmente pelos conhecimentos partilhados.

À minha co-orientadora Dra. Livia pelos ensinamentos e dicas durante esse percurso. Obrigada pelo apoio e incentivo de sempre.

Ao laboratório Euroexame por ter disponibilizado recursos para confecção deste trabalho.

Às funcionárias de Euroexame, Ylanna e Vânia, por toda disponibilidade e ajuda. Obrigada por terem tornado os dias de trabalho mais leves e descontraídos

Aos meus pais, Socorro e Hélio, por serem meu ponto de referência e por me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos e a me tornar uma pessoa e uma profissional cada vez melhor. Obrigada pelas palavras de apoio, conforto e incentivo. Vocês são os melhores!

Ao Roni, que esteve ao meu lado nesses últimos anos, me apoiando nas minhas escolhas, me escutando, incentivando e celebrando minhas vitórias. Obrigada por tanto!

Á Zita, minha querida amiga, por ter me ensinado tanto e por vibrar pelas minhas conquistas. Saudades!

E as professoras, Adriana e Fabiana pela gentileza e disponibilidade em avaliar este

trabalho.

## EPÍGRAFE

“ O sucesso nasce do querer,  
da determinação e persistência  
em se chegar a um objetivo.  
Mesmo não atingindo o alvo,  
quem busca e vence obstáculos,  
no mínimo fara coisas admiráveis. ”  
José de Alencar

## RESUMO

ARAÚJO, Ana Paula carvalho de Araújo. **COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL FEMININA: UM ESTUDO LABORATORIAL SOBRE OS PRINCIPAIS PATÓGENOS CAUSADORES DE VAGINITE BACTERIANA.** Brasília, 2022. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

A vaginite bacteriana é considerada a infecção vaginal mais prevalente que acomete mulheres em idade fértil, estando associada a fatores de risco como, vários parceiros sexuais ou mudança de parceiro, duchas vaginais, uso de antimicrobianos, entre outros. O diagnóstico é comumente realizado através da presença de sinais e sintomas clínicos e por critérios baseados em testes como aferição de pH vaginal, teste das aminas, microscopia a fresco e bacterioscopia pela coloração de gram. No entanto, em muitos casos o diagnóstico se tornava impreciso ou até mesmo incorreto. O emprego de métodos moleculares laboratórios no diagnóstico de tais infecções se torna de grande valia, já que por meio deste é possível identificar e quantificar os micro-organismos que compõe a microbiota vaginal, bem como classificar esta microbiota. O objetivo deste estudo foi analisar o perfil de vaginite bacteriana e microbiota vaginal de mulheres com indicação clínica através de resultados de exames retrospectivos realizados em laboratório privado. Foram incluídas 225 pacientes e foram classificadas a microbiota vaginal de 217 mulheres, sendo 8 não classificadas por não terem nenhum tipo de micro-organismo identificado na amostra. As microbiotas vaginais foram ainda identificadas como eubióticas e disbióticas por redução ou excesso. As duas *Community State Types* (CST) encontradas foram CST I e IV-B, entretanto está última foi subdividida em quatro subgrupos CST IV-B: clássica, com *L. crispatus*, com *L. iners* e com *L. jensenii*. Os micro-organismos mais prevalentes foram *Gardenerella vaginalis* e *Atopobium vaginae*, e foi possível observar a presença de *Lactobacillus* spp. nas amostras de vaginite bacteriana, juntamente com as bactérias anaeróbias, corroborando com a hipótese de que a vaginite bacteriana é uma infecção polimicrobiana, e que os *Lactobacillus* embora desempenhem importante papel para prevenção de infecções vaginais e contribua para a saúde vaginal, na presença destas bactérias anaeróbias que causam vaginite os *Lactobacillus* spp. podem perder essa capacidade protetiva e permitir que a infecção ocorra. Este trabalho demonstrou a importância da utilização de técnicas moleculares no auxílio do diagnóstico correto das infecções vaginais, principalmente quando a vaginite bacteriana ocorreu na presença de *Lactobacillus* spp., uma das principais espécies que compõe a microbiota vaginal, o que demonstrou a necessidade de estudos adicionais para elucidar estas e outras questões evidenciadas pelo estudo.

**Palavras-Chaves:** vaginite bacteriana, vaginose citolítica, *Lactobacillus* spp., *Community State Types*, Microbiota Vaginal

## ABSTRACT

ARAÚJO, Ana Paula Carvalho de Araújo. **COMPOSITION OF THE FEMALE VAGINAL MICROBIOTA: A LABORATORY STUDY ON THE MAIN PATHOGENS CAUSING BACTERIAL VAGINITIS.** Brasília, 2022. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

Bacterial vaginitis is considered the most prevalent vaginal infection that affects women of childbearing age, being associated with risk factors such as multiple sexual partners or change of partner, vaginal douching, use of antimicrobials, among others. Diagnosis is commonly made by the presence of clinical signs and symptoms and by criteria based on tests such as vaginal pH measurement, amine test, wet microscopy and gram staining bacterioscopy. However, in many cases the diagnosis became imprecise or even incorrect. The use of molecular laboratory methods in the diagnosis of such infections becomes of great value, since through this it is possible to identify and quantify the microorganisms that make up the vaginal microbiota, as well as classify this microbiota. The aim of this study was to analyze the profile of bacterial vaginitis and vaginal microbiota of women with clinical indication through the results of retrospective exams carried out in a private laboratory. 225 patients were included and the vaginal microbiota of 217 women were classified, 8 of which were not classified because they did not have any type of microorganism identified in the sample. Vaginal microbiota was further identified as eubiotic and dysbiotic by reduction or excess. The two Community State Types (CST) found were CST I and IV-B, however the latter was subdivided into four subgroups CST IV-B: classical, with *L. crispatus*, with *L. iners* and with *L. jensenii*. The most prevalent microorganisms were *Gardenerella vaginalis* and *Atopobium vaginae*, and it was possible to observe the presence of *Lactobacillus* spp. in bacterial vaginitis samples, along with anaerobic bacteria, corroborating the hypothesis that bacterial vaginitis is a polymicrobial infection, and that *Lactobacillus*, although playing an important role in preventing vaginal infections and contributing to vaginal health, in the presence of these bacteria anaerobes that cause vaginitis *Lactobacillus* spp. may lose this protective ability and allow infection to occur. This work demonstrated the importance of using molecular techniques to aid in the correct diagnosis of vaginal infections, especially when bacterial vaginitis occurred in the presence of *Lactobacillus* spp., one of the main species that make up the vaginal microbiota, which demonstrated the need for additional studies. to elucidate these and other questions highlighted by the study.

**Keywords:** bacterial vaginitis, cytolytic vaginosis, *Lactobacillus* spp., Community State Types, Vaginal Microbiota

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação da microbiota vaginal .....	15
Figura 2 – Estratificação do percentual de CST e classificação de subtipos de CST IV - B sugeridos .....	27
Figura 3 – Distribuição dos graus de eubiose e disbiose nos subgrupos de CST IV – B .....	28
Figura 4 – Valores médios de <i>L. crispatus</i> quantificados na microbiota vaginal CST I .....	30
Figura 5 - Valores médios de <i>L. crispatus</i> quantificados na microbiota vaginal CST IV – B ....	31
Figura 6 – Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV – B com <i>L. crispatus</i> em eubiose .....	32
Figura 7 – Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV – B com <i>L. crispatus</i> em disbiose por excesso .....	34
Figura 8 – Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV – B com <i>L. crispatus</i> em eubiose e com predomínio de <i>L. iner</i> .....	35
Figura 9 – Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV – B com <i>L. crispatus</i> em redução e com predomínio de <i>L. iner</i> .....	37
Figura 10 – Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV – B com <i>L. crispatus</i> em disbiose por redução e com predomínio de <i>L. jensenii</i> .....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Presença de <i>Lactobacillus</i> em diferentes etnias .....	15
Tabela 2 - Pontuação Índice de Nugent .....	18
Tabela 3 - Interpretação do Índice de Nugent .....	18
Tabela 4 – Valores de referência para cada paraâmetro avaliado no exame laboratorial denominado Painel de Vaginites e Microbiota Vaginal .....	23
Tabela 5 – Distribuição por faixa etária das mulheres estudadas e classificação do estado de eubiose e disbiose vaginal na quantificação de <i>L. crispatus</i> no perfil de vaginite e microbiota vaginal avaliado pelo laboratório .....	24
Tabela 6 – Avaliação da classificação da microbiota vaginal CST por faixa etária .....	25
Tabela 7 – Subgrupos CST IV – B por faixa etária .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Aminas biogênicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CST	<i>Community State Type</i>
FS	Faculdade de Ciências da Saúde
ISTs	Infecções sexualmente transmissíveis
MBV	Microbiota vaginal
OMS	Organização Mundial da Saúde
RT PCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
VB	Vaginite bacteriana
VC	Vaginose citolítica
VR	Valor de Referência

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Composição e classificação da microbiota vaginal .....	14
1.2. Papel biológico dos <i>Lactobacillus spp.</i> .....	16
1.3 Infecções vaginais .....	16
1.3.1 Vaginite Bacteriana .....	17
1.4 Vaginite citolítica .....	17
1.5 Diagnóstico .....	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. Objetivo geral.....	20
2.2. Objetivos específicos .....	20
3. METODOLOGIA .....	21
3.1. Origem das amostras, coleta e classificação estatística do estudo.....	21
3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão .....	21
3.3. Aprovação Ética.....	21
3.4. Envio das amostras ao Laboratório Parceiro .....	22
3.5. Extração do DNA .....	22
3.6. Identificação molecular .....	22
3.7. Classificação do estado de Eubiose e Disbiose .....	23
4. RESULTADOS .....	24
4.1. Avaliação de Eubiose e Disbiose Vaginal.....	24
4.2. Classificação da Microbiota Vaginal em <i>Community State Types (CST)</i> e Grau de eubiose e disbiose .....	25
4.3. Avaliação da Microbiota Vaginal CST IV-B .....	26
4.4. Avaliação do grau de eubiose e disbiose de <i>L. crispatus</i> nos subgrupos de CST IV-B.....	27
4.5. Avaliação do grau de eubiose e disbiose de <i>L. crispatus</i> nos subgrupos de CST IV-B por faixa etária .....	28
4.6. Representação dos valores médios de <i>L. crispatus</i> quantificados na microbiota vaginal CST-I.....	29
4.7. Representação dos valores médios de <i>L. crispatus</i> quantificados na microbiota vaginal CST IV-B .....	30
4.8. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com <i>Lactobacillus crispatus</i> em eubiose.....	31
4.9. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com <i>Lactobacillus crispatus</i> em disbiose por excesso	33
4.10. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com eubiose de <i>L. crispatus</i> e predominância de	

<i>Lactobacillus iners</i> .....	34
4.11. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com disbiose por redução de <i>L. crispatus</i> e predominância de <i>Lactobacillus iners</i> .....	36
4.12. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com disbiose por redução de <i>L. crispatus</i> e predominância de <i>Lactobacillus jensenii</i> .....	37
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO .....	43
7. REFERÊNCIAS .....	44
8. APÊNDICE .....	49
8.1. Parecer Consubstanciado de aprovação do CEP-FS.....	49

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Composição e classificação da microbiota vaginal

A microbiota vaginal (MBV) saudável tem um papel importante na manutenção da saúde reprodutiva da mulher (MARTIN *et al.*, 2012) e na prevenção da colonização por microorganismos patogênicos, considerando tanto agentes causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) como do trato urinário, através da relação entre imunidade, nutrição e resposta fisiológica (HUANG *et al.*, 2014; SMITH; RAVEL, 2017).

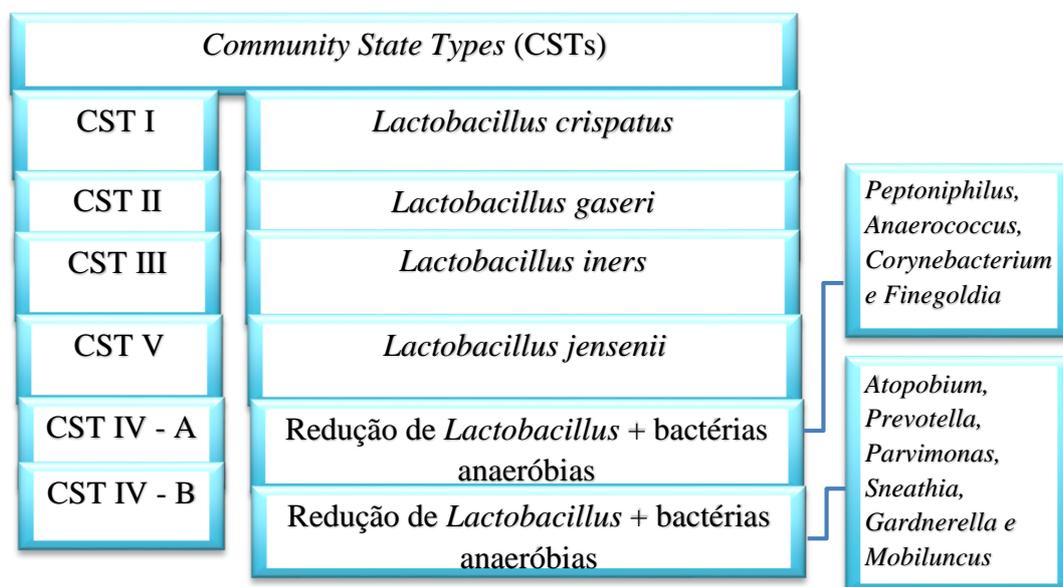
A MBV é composta majoritariamente por *Lactobacillus* spp., sendo as espécies mais comumente observadas os *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus gasseri* e *Lactobacillus jensenii* (WITKIN; LINHARES, 2017). Contudo, esta composição pode variar ao longo da vida da mulher (DIOP *et al.*, 2019), a vagina começa a ser colonizada a partir do momento que a criança passa pelo canal vaginal da mãe durante o parto, sendo os *Lactobacillus* spp. constituintes predominantes, perdurando do nascimento até meados da quarta semana de vida (DASARI, 2019). Após esse período até a puberdade o pH vaginal se torna neutro e os *Lactobacillus* spp. não são mais protagonistas dessa microbiota, podendo haver colonização por diversas bactérias, inclusive algumas potencialmente patogênicas (DASARI *et al.*, 2016). Na puberdade devido ao pH mais baixo em decorrência da produção de estrogênio *Lactobacillus* spp. voltam a ser maioria e é apenas na menopausa que eles novamente desaparecem devido ao pH neutro, deixando as mulheres mais suscetíveis a infecções (DASARI, 2019).

Em 2011, Ravel a partir do estudo da composição da MBV de mulheres de diferentes etnias por métodos moleculares, propôs a classificação em cinco tipos diferentes, denominadas *Community State Types* (CSTs): CST I com presença abundante de *L. crispatus*, CST II dominada por *L. gasseri*, CST III com maior abundância de *L. iners*, CST V dominada por *L. jensenii* e CST IV caracterizada pela escassez de *Lactobacillus* spp. e presença de bactérias anaeróbias, como *Gardnerella* spp. e *Atopobium* spp. (Figura 1) (BORGOGNA *et al.*, 2021; RAVEL *et al.*, 2011b)

A CST IV pode ser subdividida em CST IV-A e CST IV-B, sendo CST IV-A caracterizada por uma reduzida quantidade de *Lactobacillus* e presença de bactérias como *Peptoniphilus*, *Anaerococcus* (Clostridiales), *Corynebacterium*, *Fingoldia* e *Streptococcus* (GAJER *et al.*, 2012; RAVEL *et al.*, 2011a). Já a microbiota vaginal CST IV-B é composta

por baixas quantidades de *Lactobacillus* também e bactérias como *Atopobium*, *Prevotella*, *Parvimonas*, *Sneathia*, *Gardnerella*, *Mobiluncus*, *Megasphaera* (Clostidiales) (GAJER *et al.*, 2012; RAVEL *et al.*, 2011b; ROMERO *et al.*, 2014).

Figura 1 – Classificação da microbiota vaginal



Fonte: Adaptado de RAVEL *et al.*, 2011; BORGOGNA *et al.*, 2021; ROMERO *et al.*, 2014

Ainda segundo Ravel, a composição da MBV pode variar de acordo com a etnia da mulher (Figura 2). As CST I, II, III e V foram encontradas em sua grande maioria em mulheres asiáticas e brancas, e com menor incidência em negras e hispânicas. Já a microbiota CST IV, caracterizada pela diversidade de micro-organismos, foi mais presente em negras e hispânicas em menor quantidade em brancas e asiáticas (RAVEL *et al.*, 2011b).

Tabela 1 – Presença de *Lactobacillus* em diferentes etnias

Classificação CST	Brancas	Asiáticas	Negras	Hispânicas
CST I	41,9%	22,9%	21,9%	13,3%
CST II	32%	20%	20%	28%
CST III	19,3%	30,4%	24,4%	25,9%
CST IV	9,3%	17,6%	38,9%	34,3%
CST V	42,9%	33,3%	4,8%	19%

Fonte: Adaptado de RAVEL *et al.*, 2011

## 1.2. Papel biológico dos *Lactobacillus* spp.

Os *Lactobacillus* spp. têm múltiplas funções biológicas, entre elas, são responsáveis pela produção de ácido láctico e peróxido de hidrogênio, substâncias nocivas ao crescimento de alguns micro-organismos patogênicos (VIEIRA-BAPTISTA; BORNSTEIN, 2019).

Fatores endógenos e exógenos podem interferir na presença e quantidade dessas bactérias, o estrogênio é um exemplo, já que apresenta papel fundamental na manutenção do epitélio vaginal por meio da produção de glicogênio, fator importante para o desenvolvimento de *Lactobacillus* spp. (BROTMAN *et al.*, 2014; DANIELSSON; TEIGEN; MOI, 2011; GODHA *et al.*, 2018).

A produção de ácido láctico a partir do glicogênio presente na vagina, é uma das principais características dos *Lactobacillus* spp., tal função proporciona um pH vaginal mais ácido, dificultando o crescimento de outros micro-organismos potencialmente patogênicos. Existem dois isômeros do ácido láctico, ácido láctico – D e ácido láctico – L, as espécies *L. crispatus*, *L. gasseri* e *L. jensenii* são produtoras do isômero D, responsável pela proteção e manutenção da saúde vaginal, e apenas o *L. iners* produz ácido láctico – L (WITKIN; LINHARES, 2017).

Os *Lactobacillus* também são capazes de produzir outras substâncias com atividade bactericida, como por exemplo, as bacteriocinas, peptídeos que quando ligados a receptores específicos das bactérias resultam em morte celular (DASARI, 2019), e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) capaz de inibir o crescimento de bactérias como *Gardnerella*, *Chlamydia*, *Trichomonas* e *Neisseria* (DASARI *et al.*, 2014).

## 1.3 Infecções vaginais

Considerando o papel importante dos *Lactobacillus* spp. no controle da colonização por bactérias patogênicas, é fato conhecido que a escassez destes favorece o desenvolvimento de infecções. Essa situação de desequilíbrio caracteriza um quadro de disbiose, condição pela qual micro-organismos que podem naturalmente fazer parte da MBV tais como *Gardnerella* spp., *Atopobium* spp., *Prevotella* spp., *Candida* spp., *Megasphaera* spp. e BVABs em quantidades reduzidas, passam a predominar, muitas vezes formando biofilmes e impedindo que os *Lactobacillus* spp. tenham acesso aos estoques de glicogênio, reduzindo as chances da

MBV retornar ao seu estado de eubiose podendo resultar em vaginites (DIOP *et al.*, 2019; PRAMANICK *et al.*, 2019; SARAF *et al.*, 2021; VIEIRA-BAPTISTA; BORNSTEIN, 2019).

### **1.3.1 Vaginite Bacteriana**

A Vaginite Bacteriana (VB) genericamente pode ser caracterizada pela ausência de *Lactobacillus* spp. e crescimento aumentado de bactérias anaeróbias e aeróbias facultativas (DE SETA *et al.*, 2022; VIEIRA-BAPTISTA; BORNSTEIN, 2019), estando associada a microbiota CST IV (SMITH; RAVEL, 2017).

Sua etiologia não é muito bem elucidada e atualmente existem hipóteses diferentes para a origem da infecção publicadas na literatura. Alguns autores defendem que a infecção se instala em consequência de um único patógeno enquanto outros defendem tratar-se de uma infecção polimicrobiana (JOSEY; SCHWEBKE, 2008), onde há presença de mais de uma bactéria anaeróbia (MACHADO; CERCA, 2015). É conhecido que a VB está associada a fatores de risco, tais como: vários parceiros sexuais ou um novo, duchas vaginais e o uso de antimicrobianos (DE SETA *et al.*, 2022).

Além da VB, a disbiose vaginal torna a mulher suscetível a outras ISTs (NEAL *et al.*, 2020; VIEIRA-BAPTISTA; BORNSTEIN, 2019), bem como a partos prematuros, inflamações do endométrio e neoplasias (DE SETA *et al.*, 2022).

### **1.4 Vaginite citolítica**

Assim como a redução de *Lactobacillus* spp. caracteriza uma disbiose, o aumento exacerbado desses micro-organismos também pode estar associado a mesma condição quando em excesso, os *Lactobacillus* spp. produzem grandes quantidades de ácido lático, alterando assim o pH da vagina e conseqüentemente resultando em citólise (YANG *et al.*, 2020). A lise das células epiteliais da vagina é uma característica da Vaginite Citolítica (VC), cujos principais sintomas são: prurido, dispaurenia ardência, disúria e descarga vaginal, presentes principalmente na fase lútea (BHAT *et al.*, 2009).

A VC diferentemente da VB, não está associada a presença de patógenos, mas seus sintomas muitas vezes podem ser confundidos com os sintomas de infecções vaginais dificultando um diagnóstico correto e conseqüente o tratamento (YANG *et al.*, 2020).

## 1.5 Diagnóstico

Até início da década de 2000 não havia análise molecular e o diagnóstico das VB e VC podia ser realizado com base em sintomas, sinais clínicos e por critérios baseados em testes como aferição de pH vaginal, teste das aminas (aplicação de KOH em lâmina contendo secreção vaginal, produzindo odor devido à liberação de aminas), microscopia a fresco e bacterioscopia pela coloração de gram para avaliação morfológica e semi quantitativa das bactérias (MARRAZZO, 2011).

A partir da bacterioscopia, Nugent em 1991, propôs um *score* para o diagnóstico de VB. O índice de *Nugent* foi e ainda é muito utilizado, consiste na avaliação morfológica e semi quantitativa das bactérias, criando uma escala que varia de 0 a 10, sendo MBV normal (0 – 3), intermediária (4 – 6) e sugestivo de VB (7 – 10) (Tabela 2 e 3) (MARRAZZO, 2011).

Através deste método é possível identificar a presença de *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis* aderida à superfície de *clue cells* e *Mobiluncus* spp. que são semi quantificados para obtenção do Índice de *Nugent*. Apesar de ser muito útil no diagnóstico de VB, o índice de *Nugent* pode se tornar falho quando relacionado as bactérias de difícil cultivo ou até mesmo não cultiváveis.

Tabela 2 – Pontuação Índice de *Nugent*

Quantidade de micro-organismos contados	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Mobiluncus</i> spp.
0	4	0	0
1	3	1	1
2 a 5	2	2	1
6 a 30	1	3	2
>30	0	4	2

Fonte: Adaptado de NUGENT et al., 1991

Tabela 3 – Interpretação do Índice de *Nugent*

Pontuação	Interpretação
0 a 3	Microbiota normal
4 a 6	Microbiota intermediária
7 a 10	Microbiota sugestiva de vaginite bacteriana

Fonte: Adaptado de NUGENT et al., 1991

Em 2002 foi publicado um dos primeiros estudos de caracterização da MBV por meio de testes moleculares (BURTON; REID, 2002), com o maior acesso a essas técnicas, a identificação de bactérias associadas a VB se tornou mais fácil e culminando em um

diagnóstico mais claro (VAN DE WIJGERT *et al.*, 2014).

Os testes moleculares, como os que empregam a metodologia de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR), apresentam vantagens quando comparados a outras formas de identificação dos micro-organismos presentes na MBV. É possível a identificação de bactérias não cultiváveis, bem como quantificação de bactérias como *Gardnerella* spp. e *Atopobium* spp. que naturalmente podem estar presentes em quantidades reduzidas na vagina sem causar infecções (DE BACKER *et al.*, 2007; FREDRICKS; FIEDLER; MARRAZZO, 2005), mas em quantidades maiores são patobiontes e agentes etiológicos principais das vaginites bacterianas (DENG *et al.*, 2022). O teste molecular realizado pela metodologia de RT-PCR pode ainda auxiliar em casos onde a paciente não apresenta sintomas e na classificação da MBV, proporcionando um diagnóstico mais assertivo e seguro (COLEMAN; GAYDOS, 2018).

O diagnóstico de VC se baseado apenas em sinais e sintomas pode ser tornar falho, devido à semelhança com outras infecções, portanto faz-se necessário o diagnóstico laboratorial, que é realizado por meio do esfregaço com coloração de Gram, pelo qual é possível observar a presença exacerbada de *Lactobacillus* spp., ausência de bactérias anaeróbias, redução de leucócitos e sinais de lise celular (BHAT *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2020). Em contrapartida tal método não consegue identificar qual a espécie de *Lactobacillus* spp. está colonizando a MBV, podendo ser de grande valia a utilização de técnicas moleculares que auxiliem na identificação e quantificação dos componentes da microbiota, proporcionando um diagnóstico mais preciso (XU *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2020).

O emprego de metodologias laboratoriais moleculares no diagnóstico das vaginites, em destaque a vaginite bacteriana aqui abordada, permitiu a caracterização da microbiota vaginal de mulheres brasileiras, a partir da classificação descrita por Ravel *et al* (2011) e do emprego de exame laboratorial já disponível para diagnóstico em laboratórios de rotina. O estudo permitiu ainda, a compreensão precisa dos agentes etiológicos principais envolvidos na VB, o que permite tratamento personalizado e efetivo sobre os patógenos, e a reabilitação de saúde na microbiota vaginal, o que interfere diretamente na qualidade de vida destas mulheres afetadas, bem como na recorrência da VB.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Analisar o perfil de vaginite bacteriana e microbiota vaginal de mulheres com indicação clínica, através de resultados de exames retrospectivos realizados em laboratório privado.

### **2.2. Objetivos específicos**

Categorizar e analisar as espécies identificadas e quantificadas no exame diagnóstico que emprega a técnica de RT-PCR para avaliação de vaginite bacteriana e microbiota vaginal.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Origem das amostras, coleta e classificação estatística do estudo**

As amostras foram provenientes de pacientes com suspeita de vaginite bacteriana e vaginite citolítica atendidas em um Laboratório de diagnóstico especializado no Distrito Federal, Euroexame Diagnóstico Laboratorial, no período de dezembro de 2018 a janeiro de 2022. O laboratório envia as amostras para processamento em laboratório Europeu certificado, e mantém contrato de sigilo com o laboratório responsável pelo processamento das amostras.

Para este estudo não tivemos acesso aos dados clínicos da paciente, como sinais e sintomas, apenas as amostras.

A coleta foi realizada por um ginecologista, em fundo de saco e endocérvice com auxílio de um espécule descartável e estéril, utilizando *swab* em tubo sem meio de cultura, e o laboratório recebeu as amostras já coletadas. Após compilados os resultados desta amostra de conveniência, foram analisados 225 resultados de exames de pacientes realizados no laboratório. A média de idade das mulheres catalogas no estudo foi de  $38,6 \pm 10$  anos, compreendendo mulheres de 21-70 anos. Para proporcionar melhor análise, as mulheres foram estratificadas em quatro grupos: 21-40, 41-50, 51-65 e > 66 anos.

Seguindo os critérios estatísticos, o estudo pode ser classificado como Estudo Transversal retrospectivo com amostragem não probabilística por conveniência.

#### **3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão**

Foram incluídos no estudo todos os resultados de exames solicitados ao laboratório com prescrição médica e dentro da faixa de tempo delimitada para o estudo. Foram excluídos resultados anteriores e posteriores a data selecionada.

#### **3.3. Aprovação Ética**

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências da Saúde (FS), onde foi aprovado em 11/06/2021 por parecer consubstanciado emitido pelo CEP-FS sob o número 4.767.583 (Apêndice 1).

### **3.4. Envio das amostras ao Laboratório Parceiro**

Após coletada a amostra de *swab* vaginal sem meio de transporte, as amostras foram remetidas ao laboratório parceiro Europeu para processamento. Para o envio, o laboratório emprega caixa apropriadas para transporte de material biológico categoria B conforme definição de risco da OMS e normas preconizadas pela ANVISA, além de transportadora de material biológico certificada.

### **3.5.Extração do DNA**

No laboratório parceiro, o *swab* vaginal foi utilizado para extração do material genético de forma automatizada empregando o *MPLC Total Nucleic Acid Isolation Kit* (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha) e o equipamento *Magna Pure LC 2.0* (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

### **3.6.Identificação molecular**

Para análise foi utilizado a metodologia molecular Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR). Essa metodologia se baseia na amplificação de uma região determinada do DNA, produzindo diversas cópias da molécula de interesse, e é dividida em três etapas: desnaturação, hibridização e polimerização.

Para identificação de micro-organismos causadores de vaginite bacteriana e *Lactobacillus* spp. foi utilizado o kit *Allplex bacterial vaginosis assay* (Seegene Inc., Korea), que identifica: *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, Bactérias Associadas à Vaginite Bacteriana tipo 2 (BVAB2) (Clostridiales), *Bacteroides fragilis* e *Mobiluncus* spp.

O kit detecta quantitativamente *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, mas apenas qualitativamente Bactérias Associadas à Vaginite Bacteriana tipo 2 (BVAB2) (Clostridiales), *Megasphaera* tipo 1, *Bacteroides fragilis* e *Mobiluncus* spp.

Para a determinação quantitativa destes últimos patógenos descritos, o laboratório parceiro emprega um controlo positivo, realiza uma curva de calibração externa e calcula empregando um algoritmo padronizado por eles e não revelado ao laboratório brasileiro. O

laudo do laboratório internacional apresenta valores de referência, empregados no trabalho para a classificação de Eubiose e Disbiose (redução e/ou excesso) vaginal (Tabela 4).

### 3.7. Classificação do estado de Eubiose e Disbiose

A classificação em Eubiose e Disbiose vaginal empregou o valor de referência descritos no laudo do exame para *L. crispatus*, que é 10.000 a 500.000 cópias/mL. Valores compreendidos dentro da faixa descrita do Valor de Referência (VR) foram considerados como em Eubiose para a microbiota vaginal. Valores inferiores ao VR descritos foram considerados com Disbiose por redução do *Lactobacillus crispatus*, enquanto valores superiores ao limite máximo do VR considerados com Disbiose por excesso do micro-organismo.

Tabela 4 – Valores de Referência para cada parâmetro avaliado no exame laboratorial denominado Painel de Vaginite e Microbiota Vaginal

Patógeno avaliado	Valor de Referência (cópias/mL)
<i>Lactobacillus crispatus</i>	10.000 a 500.000
<i>Lactobacillus gasseri</i>	5.000 a 75.000
<i>Lactobacillus iners</i>	2.500 a 50.000
<i>Lactobacillus jensenii</i>	2.500 a 50.000
<i>Atopobium vaginae</i>	Inferior a 100
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Inferior a 100
BVAB2, Bactérias associadas a vaginose bacteriana 2 (Clostridiales)	Inferior a 100
<i>Megasphaera</i> tipo 1	Inferior a 100
<i>Mobiluncus</i> spp.	Inferior a 250
Caracterização do tipo de microbiota	<i>Community State Types (CST)</i>

Valor de Referência (VR)

Fonte: Laboratório Europeu Certificado, laudo do exame Painel de Vaginite e Microbiota Vaginal

### 3.8. Análise de dados

Os dados coletados foram introduzidos em planilhas de *Microsoft Office Excel* (Microsoft) e foram calculados os quantitativos e percentuais dos exames. Após tratados, os dados foram avaliados estatisticamente, quando adequado empregando o *software GraphPad Prism version 7.00* para Windows (La Jolla, Califórnia, Estados Unidos), empregando o teste de ANOVA de uma via e pós-teste de *Dunnnett's* para comparações múltiplas entre os grupos.

## 4. RESULTADOS

A microbiota vaginal das mulheres saudáveis é predominantemente dominada por *Lactobacillus* spp., sendo a espécie mais frequentemente encontrada *L. crispatus*. Partindo desse conhecimento, os resultados obtidos são descritos a seguir:

### 4.1. Avaliação de Eubiose e Disbiose Vaginal

Analisando a tabela 5, observa-se que a faixa etária que apresentou maior número de mulheres que realizaram o exame, e conseqüentemente maior prevalência foi a 20-40 anos (68,8%), seguida pela de 41-50 anos (18,7%), ou seja, mulheres jovens (Tabela 5). Observa-se uma distribuição equitativa nestas faixas etárias entre mulheres que apresentam eubiose, disbiose por redução e disbiose por excesso de *L. crispatus*.

Outro fato relevante é que em mulheres pertencentes às outras duas faixas etárias 51-65 e > 66 anos, 13 mulheres apresentam MBV em eubiose e 3 com disbiose por excesso de *Lactobacillus* spp. (Tabela 5).

Tabela 5 – Distribuição por faixa etária das mulheres estudadas e classificação do estado de eubiose e disbiose vaginal baseado na quantificação de *L. crispatus* no perfil de vaginite e microbiota vaginal avaliado pelo laboratório

Faixa Etária (anos)	n	<i>L. crispatus</i>			
		Eubiose	Disbiose redução	Disbiose Excesso	Não Classificada
20-40	155 (68,8%)	55	44	50	6
41-50	42 (18,7%)	15	13	14	0
51-65	22 (9,8%)	11	7	3	1
> 66	6 (2,7%)	2	3	0	1
Total	225 (100%)	83	67	67	8

Também na tabela 5, dos 225 resultados analisados, 8 mulheres apresentaram resultados negativos para todos os parâmetros avaliados, e foram chamadas de “Sem Classificação”, pois a ausência de *Lactobacillus* spp. e dos demais micro-organismos avaliados no exame impossibilitam a classificação da microbiota vaginal, e excluem a existência de vaginite bacteriana por anaeróbios, embora a rigor, na ausência de *L. crispatus*, pode-se afirmar que há a existência de Disbiose por redução, mas não se pode excluir a existência de outras vaginites não diagnósticas no exame avaliado, e nem a constatação que se está diante de casos de microbiota vaginal ausente de *Lactobacillus* spp., mas com outras

bactérias lácteas presentes, que não é alvo do estudo e não foi investigado.

#### 4.2. Classificação da Microbiota Vaginal em *Community State Types* (CST) e Grau de eubiose e disbiose

Considerando os critérios de classificação descritos por Ravel *et al.* (2011) e Gajer *et al.* (2012) para a microbiota vaginal (GAJER *et al.*, 2012; RAVEL *et al.*, 2011b), e os critérios de eubiose/disbiose definidos a partir dos valores de referência do exame laboratorial, a tabela 5 apresenta os resultados encontrados.

Foi factível classificar em CST I, todas as mulheres que apresentam positividade e quantificação apenas de *L. crispatus* para o exame avaliado, com todos os demais parâmetros negativos, o que representa 35,5% (80) das mulheres estudadas. Destas, 22,2% (50) apresentaram disbiose por excesso de *L. crispatus*, então laboratorialmente podem ser classificadas como portadoras de Vaginite Citolícita, embora não existam dados clínicos para confirmar esse diagnóstico (Tabela 6).

Tabela 6 – Avaliação da classificação da microbiota vaginal CST por faixa etária

CST/Grau de Disbiose	n	Faixa Etária (anos)			
		20-40	41-50	51-65	>66
CST I	80 (35,5%)				
Eubiose	28 (12,4%)	18	7	2	1
Disbiose Redução	2 (0,9%)	1	0	1	0
Disbiose Excesso	50 (22,2%)	35	12	3	0
CST IV-B	137 (60,9%)				
Eubiose	56 (24,9%)	38	8	9	1
Disbiose Redução	65 (28,9%)	41	12	6	6
Disbiose Excesso	16 (7,1%)	14	2	0	0
Total	217	147 (67,7%)	41 (18,9%)	21 (9,7%)	8 (3,7%)

*Community State Types* (CST)

Por outro lado, em 0,9% (2) e em 12,4% (28) mulheres foi possível inferir a presença de disbiose por redução e excesso, respectivamente de *L. crispatus*, indicando que não há positividade para nenhum dos patógenos anaeróbios pesquisados. Entretanto o médico ginecologista pode avaliar após anamnese, exame físico e relato de sintomas que, ou não há uma vaginite bacteriana presente, ou pode haver outra vaginite presente, como candidíase ou Vaginite Aeróbia (VA), efetivamente fazendo diagnóstico diferencial através do exame realizado, obviamente junto com as demais informações aqui apenas elucubradas, pois o

laboratório não tem acesso a estes dados (Tabela 6).

Em relação a CST IV-B 28,9% (65) das mulheres apresentam disbiose com redução de *L. crispatus* e presença de anaeróbios para ser classificada com CST IV-B classicamente descrita na literatura. Entretanto, 24,9% (56) e 7,1% (16) mulheres apresentaram valores de referência dentro da normalidade, ou seja, em eubiose para a quantificação de *L. crispatus*, ou em disbiose por excesso desse micro-organismo, respectivamente. Estas duas situações descritas, estão em desacordo com as publicações científicas sobre vaginite bacteriana, pois não é esperado quantidade normais ou elevadas de *L. crispatus* associada à presença de vaginite bacteriana, uma vez que a presença de *L. crispatus* tem efeito protetivo para evitar infecções vaginais (Tabela 6).

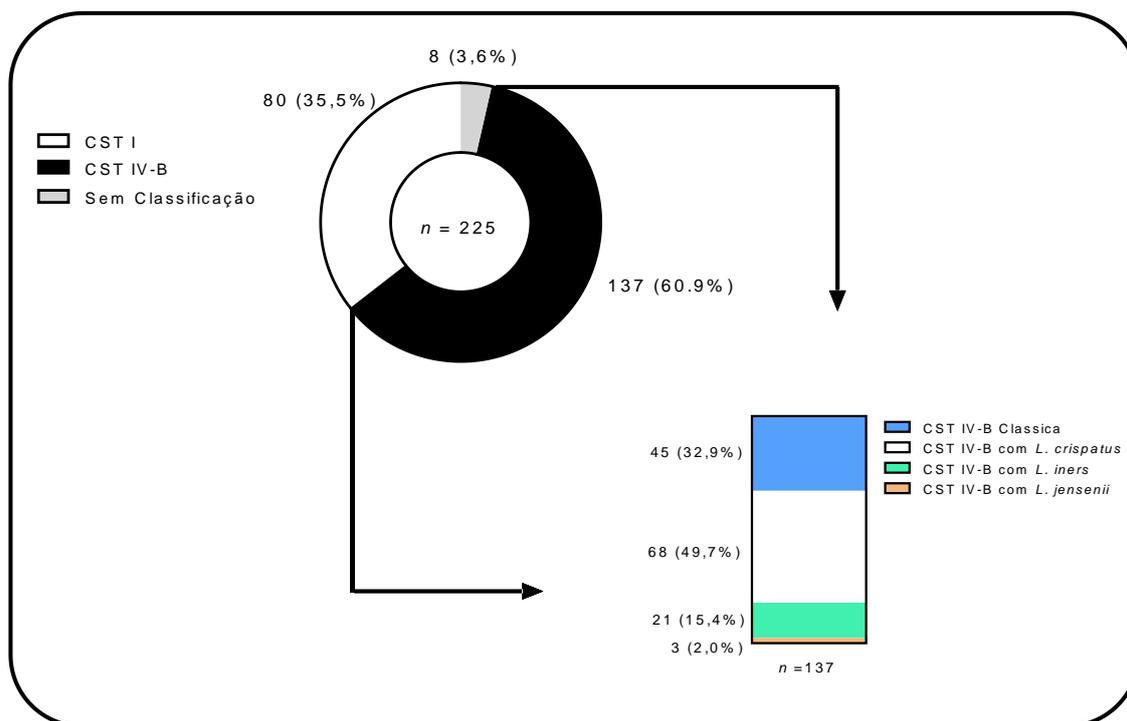
### **4.3. Avaliação da Microbiota Vaginal CST IV-B**

Diante do resultado anteriormente descrito, a presença de mulheres com CST IV-B com *L. crispatus* em eubiose e disbiose por excesso desse micro-organismo, essas 137 mulheres (60,9%) foram estratificadas, para avaliar a presença e distribuição deste e de outras espécies de *Lactobacillus*.

Estas 137 mulheres foram agrupadas em quatro subgrupos distintos: CST IV-B clássica (com presença de anaeróbios e redução de *L. crispatus*), CST IV-B com *L. crispatus* (com presença de anaeróbios e de *L. crispatus* em eubiose ou em excesso), CST IV-B com *L. iners* (com presença de anaeróbios e de *L. crispatus* associado a presença de *L. iners*) e CST IV-B com *L. jensenii* (com presença de anaeróbios e de *L. crispatus* associado a presença de *L. jensenii*) demonstrados na figura 2.

Os resultados após a estratificação em subgrupos de CST IV-B mostram que 32,9% foram classificadas como CST IV-B clássica, 49,7% como CST IV-B com *L. crispatus*, 15,4% como CST IV-B com *L. iners* e 2,0% como CST IV-B com *L. jensenii* (Figura 2).

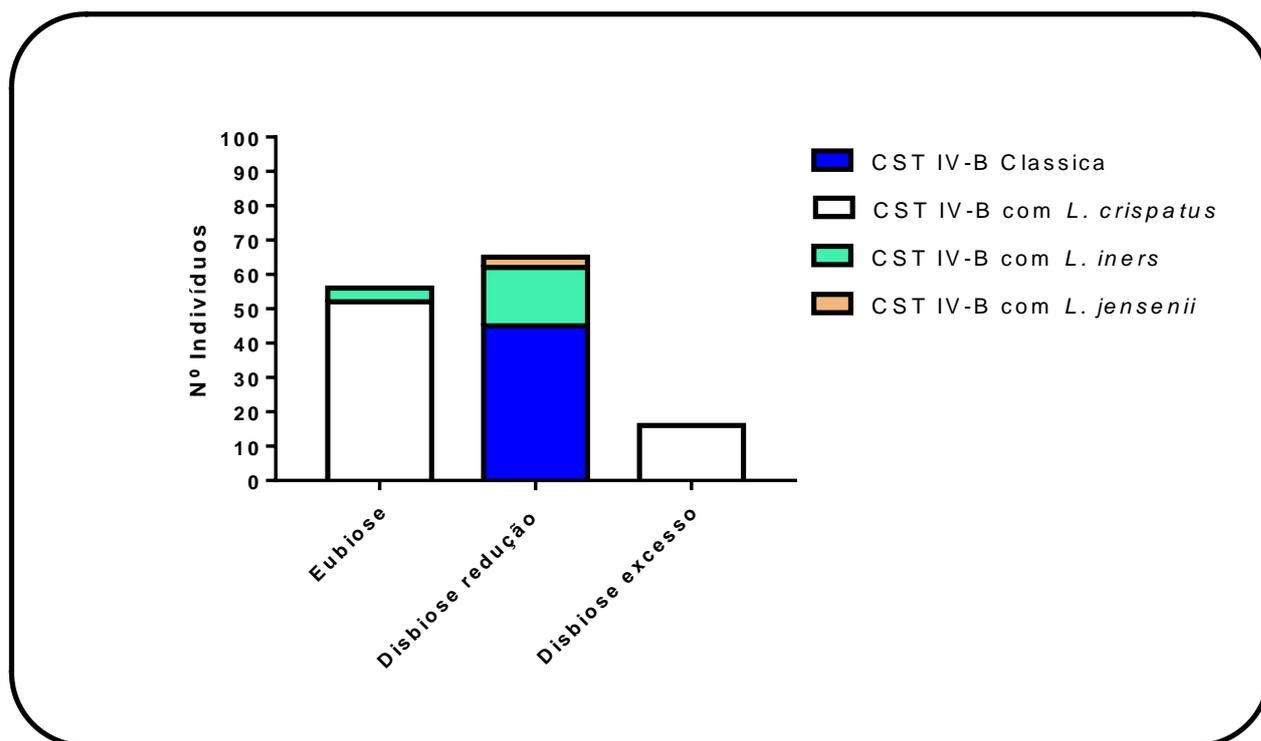
Figura 2 – Estratificação do percentual de CST e classificação de subtipos de CST IV-B sugeridos



#### 4.4. Avaliação do grau de eubiose e disbiose de *L. crispatus* nos subgrupos de CST IV-B

Após efetuar-se a divisão em subgrupos de CST IV-B observa-se que a distribuição de *L. crispatus* em cada um dos subgrupos, está classificada como demonstrado na figura 3. No subgrupo CST IV-B clássica (*L. crispatus* apresenta-se em disbiose por redução), no CST IV-B com *L. crispatus* (*L. crispatus* aparece em eubiose ou em disbiose por excesso), CST IV-B com *L. iners* (*L. crispatus* aparece em eubiose ou em disbiose por redução) e finalmente no CST IV-B com *L. jensenii* (*L. crispatus* em disbiose por redução).

Figura 3 – Distribuição dos graus de eubiose e disbiose nos subgrupos de CST IV-B



#### 4.5. Avaliação do grau de eubiose e disbiose de *L. crispatus* nos subgrupos de CST IV-B por faixa etária

Quanto à distribuição do grau de eubiose e disbiose dos subgrupos CST IV-B por faixa etária, verifica-se que no grupo CST IV-B clássica a disbiose por redução de *L. crispatus* é mais frequentemente observada em mulheres jovens de 20-40 anos, e à medida que a idade se eleva é menor o número de mulheres.

As mulheres jovens da primeira faixa etária de 20-40 anos também são mais representativas para os demais grupos, inferindo que a infecção de fato parece ser mais prevalente em mulheres mais jovens.

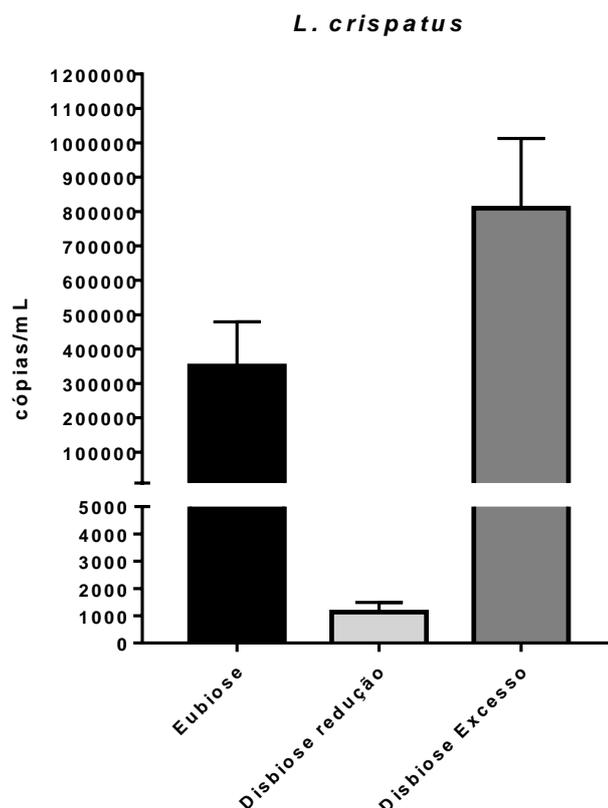
Tabela 7 – Subgrupos CST IV-B por faixa etária

Grau de Disbiose em CST IV-B e subgrupos	n	Faixa Etárias (anos)			
		20-40	41-50	51-65	>66
Clássica	45				
Eubiose	0	-	-	-	-
Disbiose Redução	45	28	9	5	3
Disbiose Excesso	0	-	-	-	-
Com <i>L. crispatus</i>	68				
Eubiose	52	35	7	9	1
Disbiose Redução	0	-	-	-	-
Disbiose Excesso	16	14	2	0	0
Com <i>L. iners</i>	21				
Eubiose	4	3	1	-	-
Disbiose Redução	17	13	3	1	-
Disbiose Excesso	0	-	-	-	-
Com <i>L. jensenii</i>	3				
Eubiose	0	-	-	-	-
Disbiose Redução	3	2	1	0	0
Disbiose Excesso	-	-	-	-	-
Total	137	95 (69,3%)	23 (16,8%)	15 (11,0%)	4 (2,9%)

#### 4.6. Representação dos valores médios de *L. crispatus* quantificados na microbiota vaginal CST-I

Os valores médios de *L. crispatus* foram representados por média e desvio-padrão, acrescidos pela classificação dos valores de referência para eubiose e disbiose. Para eubiose a média de *L. crispatus* quantificada foi de 352.980 cópias/mL (VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), para o estado de disbiose por redução deste mesmo *Lactobacillus* a média quantificada foi de 1139 cópias/mL (VR < 10.000 cópias/mL) e para o estado de disbiose por excesso de *L. crispatus* a média quantificada foi de 816.594 cópias/mL (VR > 500.000) (figura 4), que representa 35,5% (80) mulheres do estudo.

Figura 4 - Valores médios de *L. crispatus* quantificados na microbiota vaginal CST I

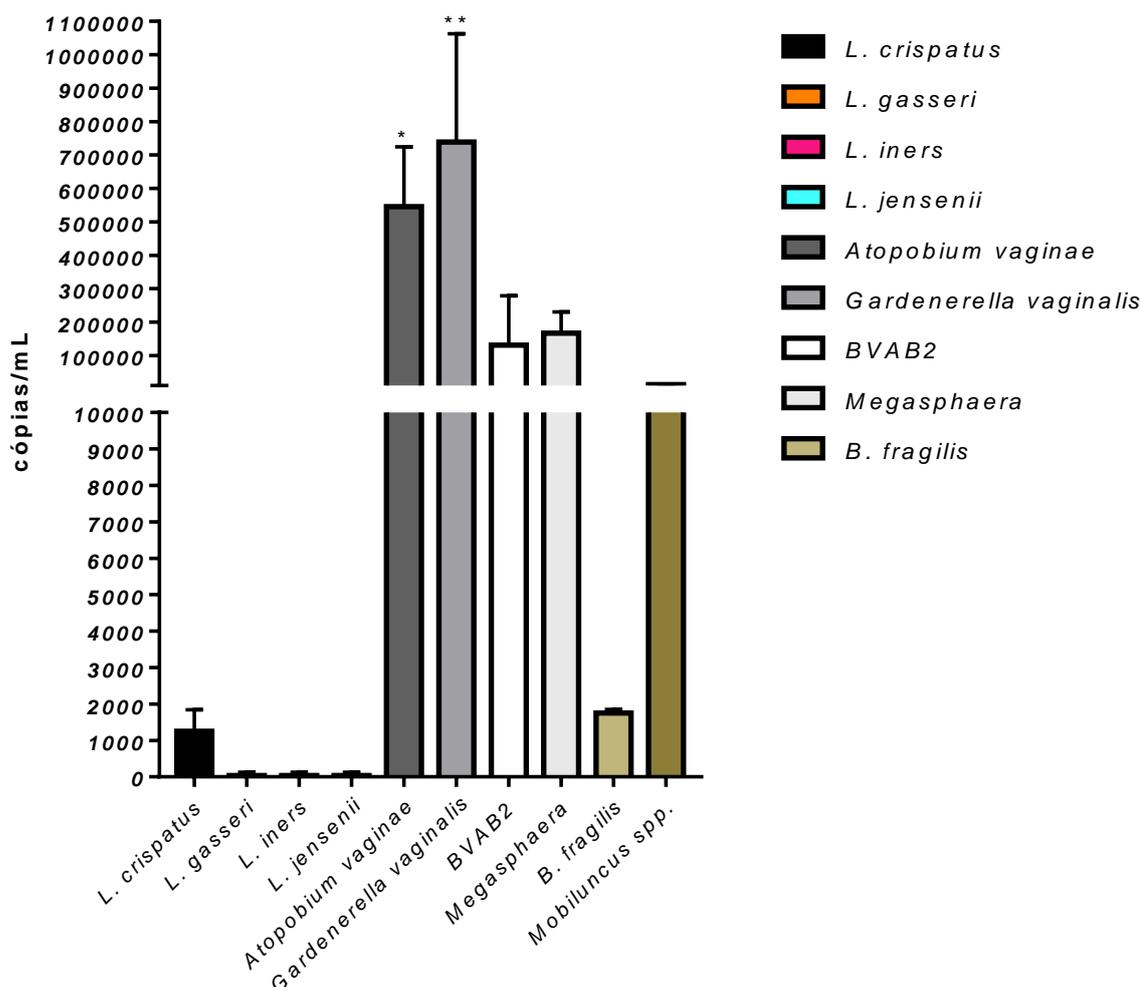


#### 4.7. Representação dos valores médios de *L. crispatus* quantificados na microbiota vaginal CST IV-B

Foram representados por média e desvio-padrão para a microbiota vaginal CST IV-B clássica, os valores de: *L. crispatus* ( $1255 \pm 589$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $545.384 \pm 179.344$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $738.808 \pm 323.897$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *BVAB2* ( $131.009 \pm 147.922$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *Megasphaera* ( $167.500 \pm 62.923$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *Bacteroides fragilis* ( $1755 \pm 100$  – VR Inferior a 100 cópias/mL) e *Mobiluncus* spp. ( $13.100 \pm 1000$  – VR Inferior a 100 cópias/mL) acrescidos dos valores de referência para cada micro-organismo, conforme mostra a figura 5.

A redução de *L. crispatus* e o aparecimento da VB propiciou o aparecimento de uma diversidade polimicrobiana de anaeróbios com predomínio de *G. vaginalis* e *A. vaginae*.

Figura 5 – Valores médios de *L. crispatus* quantificados na microbiota vaginal CST IV-B



Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0001$  e \*\*  $p=0,0001$ .

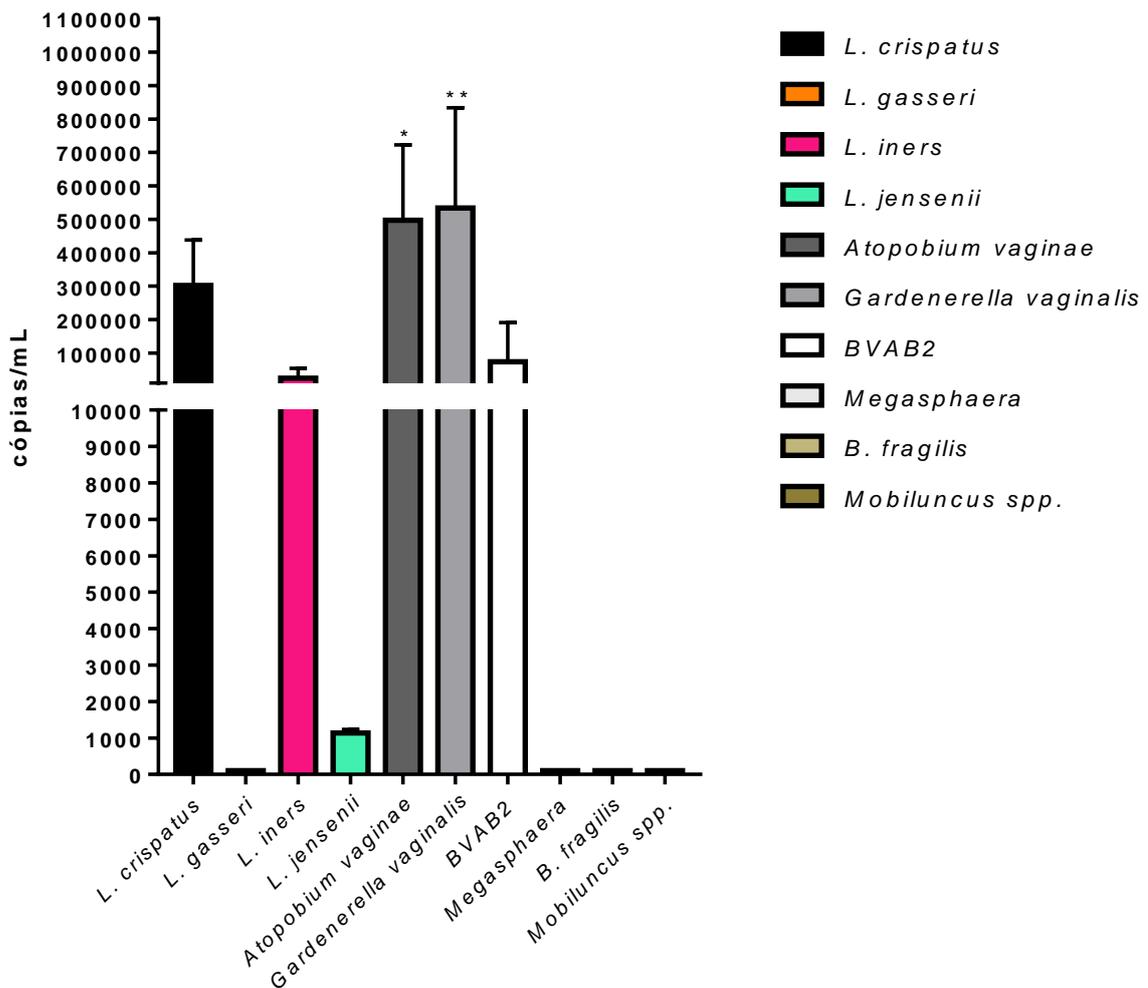
#### 4.8. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em eubiose

Foram representados por média e desvio-padrão para a microbiota vaginal CST IV-B clássica com *Lactobacillus crispatus* em eubiose, os valores de: *L. crispatus* ( $301.748 \pm 136.825$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *L. iners* ( $24.577 \pm 29.8115$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *L. jensenii* ( $1.134 \pm 100$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $497.639 \pm 224.947$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $534.247 \pm 299.769$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *BVAB2* ( $73.771 \pm 117.341$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), acrescidos dos valores de referência para cada micro-organismo, conforme mostra a figura 6.

A presença de *L. crispatus* em eubiose sugere interferência direta na diversidade

polimicrobiana, com predomínio de *G. vaginalis* e *A. vaginae*, e em proporções menores BVAB2. Isso difere da descrição da literatura, onde a presença de *L. crispatus* é considerada protetiva para o aparecimento de vaginites bacteriana, entretanto chama atenção a presença marcante de *L. iners*, descrito na literatura como marcador de disbiose e mudança da microbiota vaginal associado a presença deste *Lactobacillus* em eubiose.

Figura 6 - Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em eubiose



Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0024$  e \*\*  $p=0,0001$ .

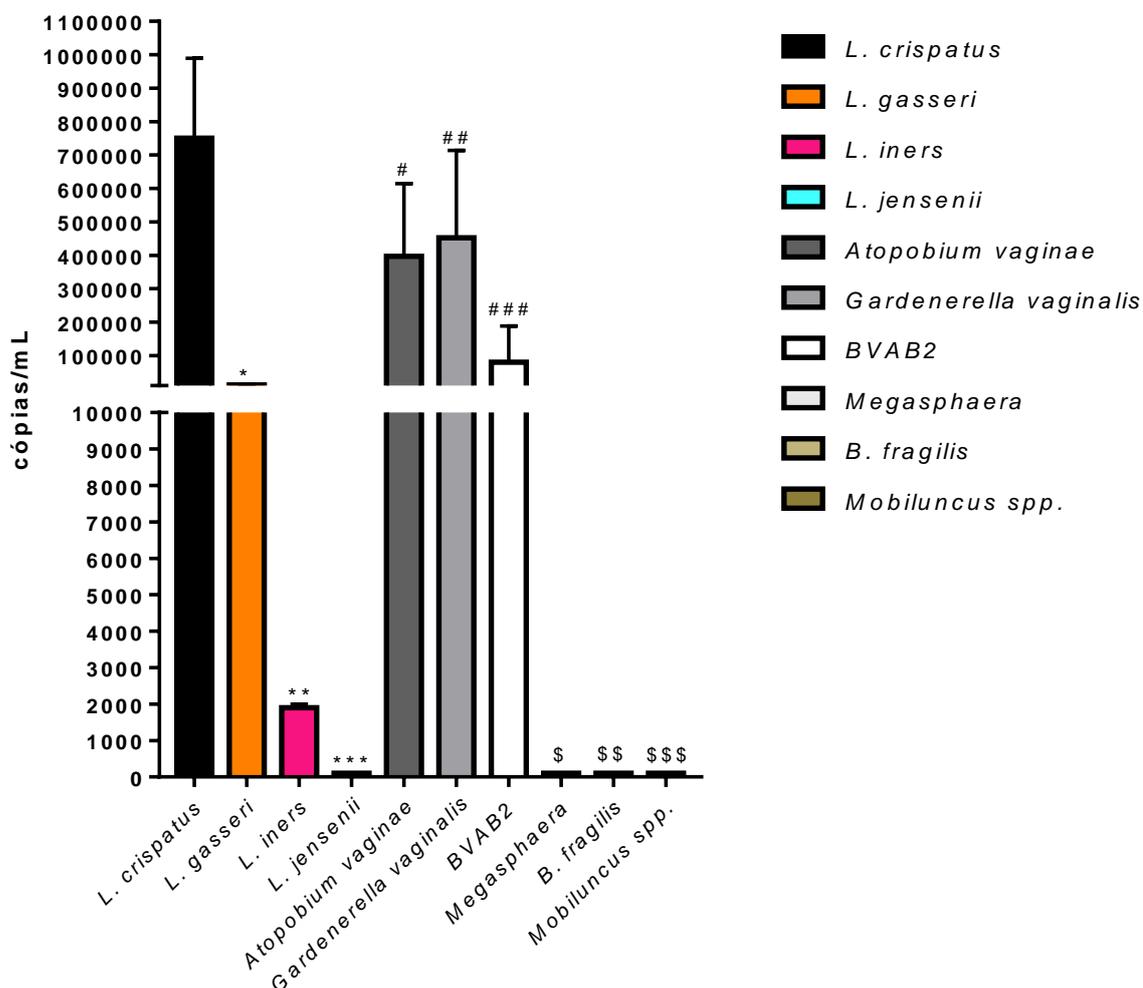
#### 4.9. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por excesso

Foram representados por média e desvio-padrão para a microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por excesso, os valores de: *L. crispatus* ( $750.168 \pm 239.139$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *L. gasseri* ( $12.000 \pm 100$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *L. iners* ( $1.900 \pm 100$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $396.973 \pm 217.545$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $452.722 \pm 260.901$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), BVAB2 ( $80.250 \pm 108.540$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), acrescidos dos valores de referência para cada micro-organismo, conforme mostra a figura 7.

Em estado de disbiose por excesso de *L. crispatus*, o *L. iners* aparece em baixas concentrações, sugerindo uma inibição do primeiro *Lactobacillus* sobre o segundo, embora essa hipótese não possa ser testada com estes resultados. Também se destaca o aparecimento concomitante de *L. gasseri*.

E embora o *L. crispatus* aqui esteja em excesso, não parece haver proteção ao desenvolvimento de VB, que continua polimicrobiana, com predominância de *G. vaginalis* e *A. vaginae*, e em proporções menores BVAB2, todas com uma relação estatisticamente significativa em comparação com *L. crispatus*.

Figura 7 - Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por excesso



Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0001$ , \*\*  $p=0,0001$ , \*\*\*  $p=0,0001$ , #  $p=0,0013$ , ##  $p=0,0028$ , ###  $p=0,0007$ , \$  $p=0,0001$ , \$\$  $p=0,0001$ , \$\$\$  $p=0,0001$ .

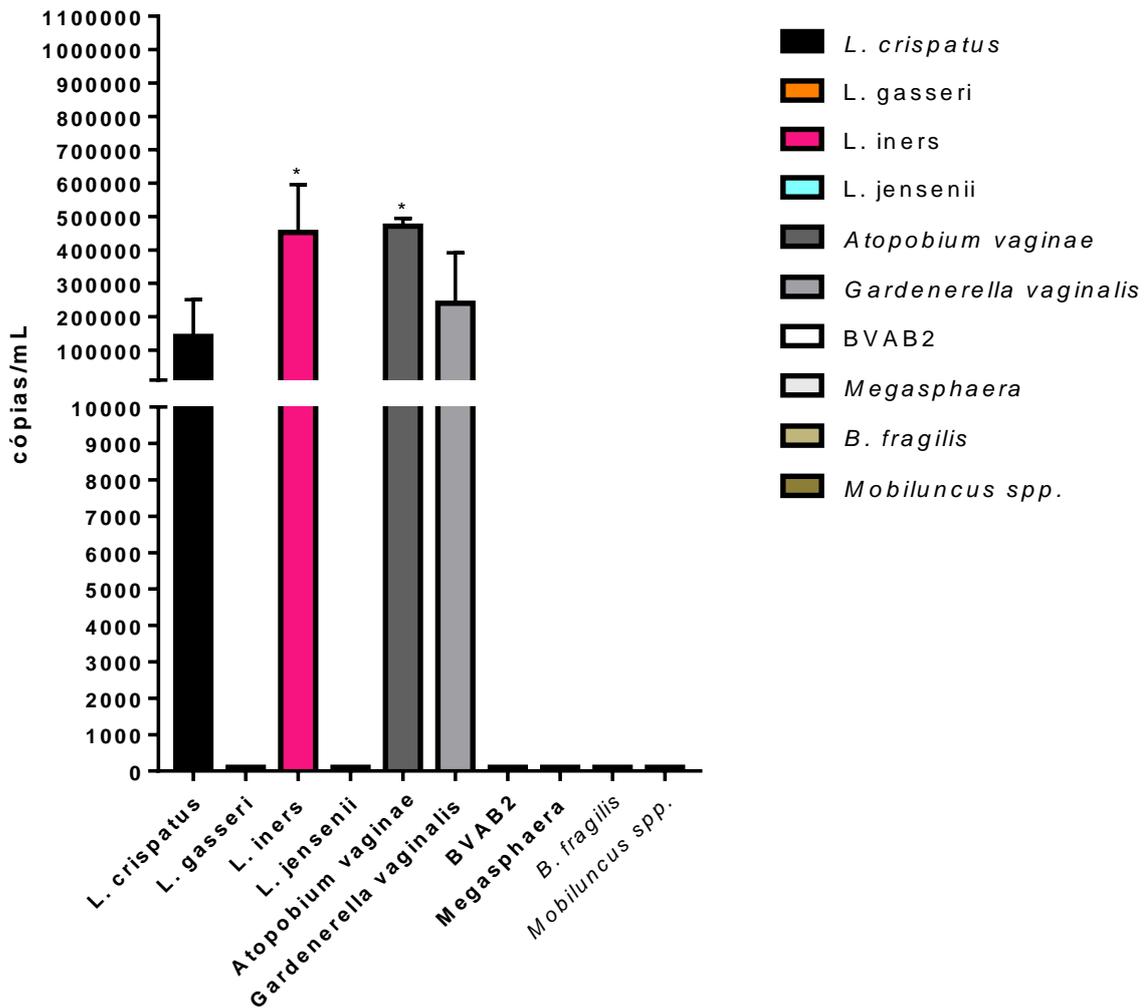
#### 4.10. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com eubiose de *L. crispatus* e predominância de *Lactobacillus iners*

Para a microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em eubiose e predomínio de *L. iners*, foram representados média e desvio-padrão dos valores de: *L. crispatus* ( $141.250 \pm 109.509$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *L. iners* ( $452.250 \pm 143.725$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $235.750 \pm 272.553$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $240.750 \pm 150.878$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), acrescidos dos

valores de referência para cada micro-organismo, conforme mostra a figura 8.

O aumento de *L. iners*, mesmo com a presença de *L. crispatus* em eubiose não impede o desenvolvimento da VB, e novamente com predomínio de *G. vaginalis* e *A. vaginae*. A proporção entre *L. crispatus* e *L. gasseri* é estatisticamente significativa, bem como a relação com *A. vaginae*.

Figura 8 - Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em eubiose e com predomínio de *Lactobacillus iners*



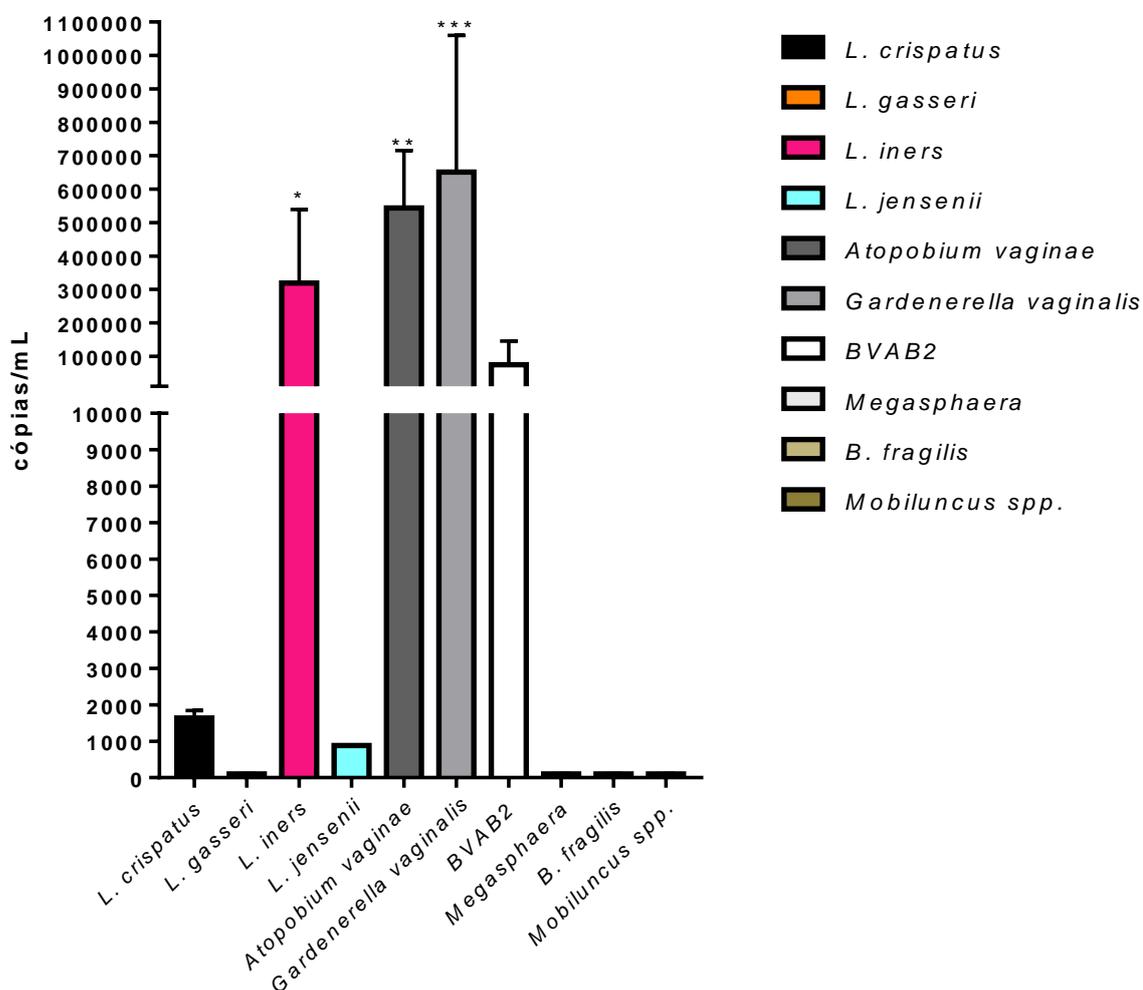
Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0004$ , \*\*  $p=0,0018$ .

#### **4.11. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com disbiose por redução de *L. crispatus* e predominância de *Lactobacillus iners***

Para a microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por redução e predomínio de *L. iners*, foram representados média e desvio-padrão dos valores de: *L. crispatus* ( $1057 \pm 821$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *L. iners* ( $319.152 \pm 220.525$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *L. jensenii* ( $882 \pm 100$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $501.615 \pm 223.075$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $651.231 \pm 409.314$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *BVAB2* ( $75.000 \pm 70.710$  – VR Inferior a 100 cópias/mL) acrescidos dos valores de referência para cada micro-organismo, conforme mostra a figura 9.

O aumento de *L. iners*, mesmo com a redução de *L. crispatus* não impede o desenvolvimento da VB, e novamente com predomínio de *G. vaginalis* e *A. vaginae*. A redução de *L. crispatus* e o aumento de *L. iners* parece potencializa o predomínio destes dois patógenos, embora está seja apenas uma hipótese não sustentada pelos resultados apresentados. A proporção entre *L. crispatus* e *L. gasseri* é estatisticamente significativa, bem como a relação com *A. vaginae* e *G. vaginalis*.

Figura 9 - Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em redução e com predomínio de *Lactobacillus iners*



Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0113$ , \*\*  $p=0,0001$  e \*\*\*  $p=0,0001$ .

#### 4.12. Representação dos valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com disbiose por redução de *L. crispatus* e predominância de *Lactobacillus jensenii*

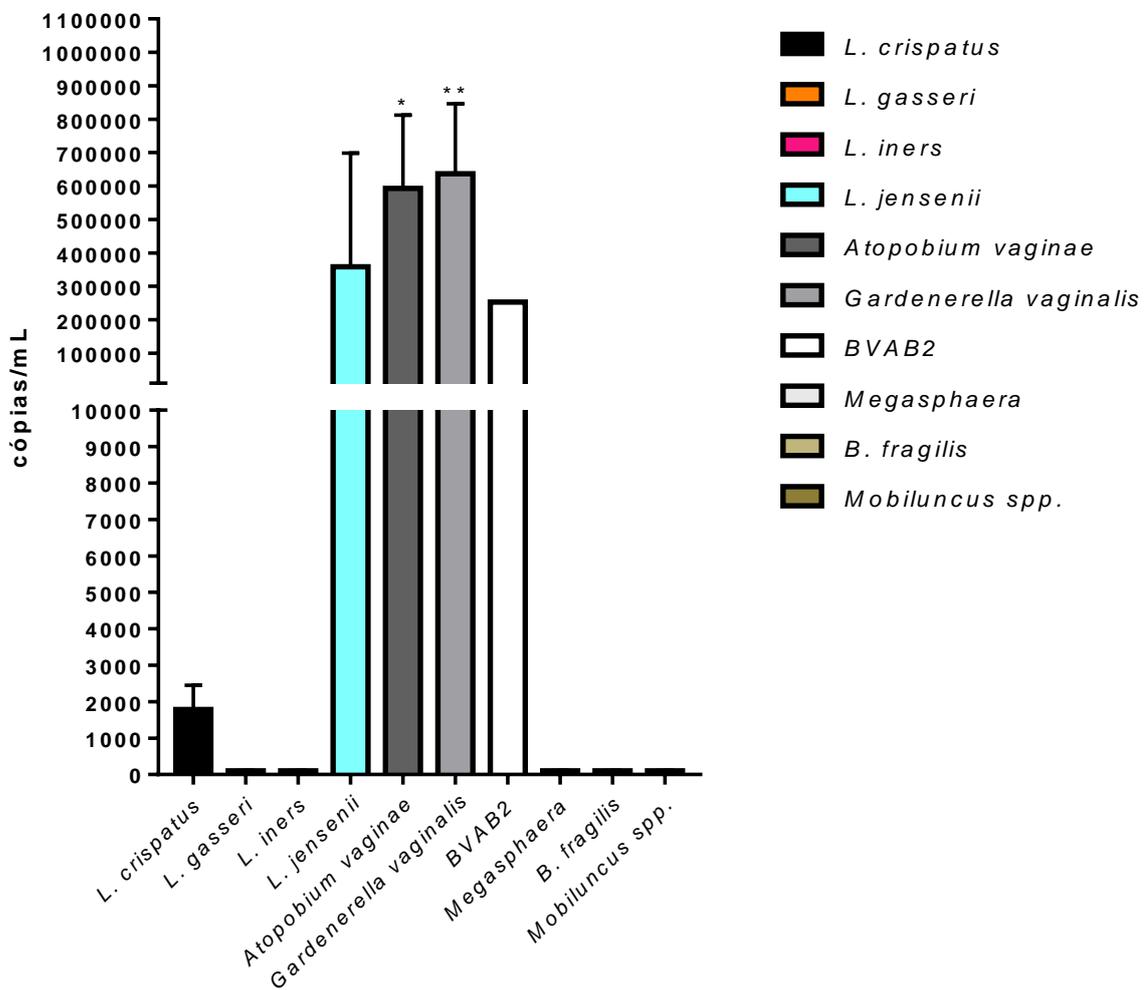
Para a microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por redução e predomínio de *L. jensenii*, foram representados média e desvio-padrão dos valores de: *L. crispatus* ( $1785 \pm 666$  – VR 10.000 a 500.000 cópias/mL), *L. jensenii* ( $358.431 \pm 340.471$  – VR 2.500 a 50.000 cópias/mL), *G. vaginalis* ( $593.000 \pm 209.957$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), *A. vaginae* ( $636.666 \pm 209.957$  – VR Inferior a 100 cópias/mL), BVAB2 ( $84.333 \pm 1000$  – VR Inferior a 100 cópias/mL) acrescidos dos valores de referência para cada

micro-organismo, conforme mostra a figura 10.

A redução de *L. crispatus* associada ao aumento de *L. jensenii* não sugere proteção para o desenvolvimento de VB, dada a relação estatisticamente significativa existente entre *L. crispatus* com *A. vaginae* e *G. vaginalis*.

Outrossim, uma microbiota vaginal dominada por *L. jensenii* também não protege do aparecimento de VB, favorecendo uma VB dominada por *A. vaginae*, *G. vaginalis* e BVAB2.

Figura 10 - Valores médios de micro-organismos quantificados na microbiota vaginal CST IV-B com *Lactobacillus crispatus* em disbiose por redução e com predomínio de *Lactobacillus jensenii*



Os valores representam média e desvio padrão dos micro-organismos quantificados. Análise de variância (ANOVA) de uma via  $p=0,0001$ , pós-teste múltiplo de *Dunnnett* comparando com *L. crispatus* todas as variáveis, \*  $p=0,0024$  e \*\*  $p=0,0012$ .

## 5. DISCUSSÃO

Considerando a importância da microbiota vaginal para a saúde e bem-estar da mulher (MARTIN *et al.*, 2012) e ainda a necessidade de um diagnóstico de vaginites bacterianas assertivo, não firmado apenas considerando sintomas e sinais observados ao exame ginecológico, é de grande valia a identificação dos micro-organismos que compõe a MBV (CHEN *et al.*, 2021). Destaca-se a existência de poucas publicações científicas a respeito do diagnóstico molecular das vaginites no Brasil (DE ALMEIDA *et al.*, 2021; MARCONI *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2018), frente à ampla utilização de métodos clínicos e microscopia, como aferição de pH, bacterioscopia com coloração de gram e teste das aminas empregados em muitas publicações (MARRAZZO *et al.*, 2019; PALADINE; DESAI, 2018).

No presente estudo, considerando o modelo proposto por Ravel *et al.* (2011), foram identificados apenas dois tipos de microbiota. Das 225 mulheres incluídas no estudo, 80 mulheres foram classificadas com microbiota CST I (35,5 %) e 137 (60,9 %) com CST IV-B. Havia amostras com presença de outros *Lactobacillus*, como *L. iners*, *L. jensenii* e *L. gasseri*, mas concomitantemente nestas amostras foram identificadas bactérias anaeróbias, características de uma microbiota CST IV-B, não havendo amostras com a presença exclusiva desses *Lactobacillus* que seriam classificadas como CST II, III e V (RAVEL *et al.*, 2011).

Levando em consideração os critérios para classificação como CST IV-B, essas amostras não se enquadravam em nenhuma CST, portanto para fins de melhor descrição e discussão dos resultados obtidos pelo presente estudo, além da definição de amostras como CST IV-B clássica, que se refere a microbiota reduzida de *Lactobacilos* e com presença de anaeróbios, a criação de subgrupos onde notou-se a presença dos *Lactobacillus* spp. em concomitância com anaeróbios, sendo eles: CST IV-B com *L. crispatus*, CST IV-B com *L. iners* e CST IV-B com *L. jensenii*.

Em relação à idade, foram identificadas 93 pacientes entre 20 e 40 anos, com microbiota vaginal classificada como CST IV-B, sugestiva de vaginite bacteriana, confirmando o que vem sendo relatado na literatura de que as vaginites são mais prevalentes em mulheres em idade reprodutiva (BORGOGNA *et al.*, 2021; DE SETA *et al.*, 2022; VAZQUEZ; FERNÁNDEZ-BLÁZQUEZ; GARCÍA, 2019).

Todas as pacientes classificadas como CST IV-B clássica, apresentaram disbiose por redução de *L. crispatus*, de forma semelhante como ocorreu com aquelas classificadas como CST IV-B com *L. jensenii* e *L. iners*, ao passo que, as classificadas como CST IV-B com *L. crispatus* estavam eubióticas, ou seja, com quantidade de *L. crispatus* dentro dos valores de

referência. Esse achado chamou a atenção para o fato de que pode haver infecção por anaeróbios mesmo na presença de quantidades normais ou em excesso de *L. crispatus*. Achados semelhantes foram encontrados em outro estudo, onde a presença de *Lactobacillus* spp. e VB foi encontrada empregando RT-PCR, embora as espécies de *Lactobacillus* spp. não tenham sido identificadas (NUMANOVIC *et al.*, 2021), como em nosso estudo.

Esta espécie de *Lactobacillus* é a que mais produz quantidade expressiva de ácido láctico, é considerado um marcador da microbiota vaginal saudável, além de produzir bacteriocinas, anti-toxinas, peróxido de hidrogênio, peptídeos antimicrobianos, entre outros mecanismos que reduzem as vaginites e mantem a microbiota vaginal saudável (PETROVA *et al.*, 2015). Além disso, a produção de ácido láctico por essa espécie, mantem o ambiente vaginal ácido, que dificulta o crescimento de bactérias anaeróbias (WITKIN; LINHARES, 2016).

A vaginite bacteriana (VB) cujo sintoma clínico mais proeminente é o mau odor, está ligado à produção microbiana de aminas biogênicas (AB) principalmente por espécies como a *G. vaginalis*. Essas AB estão associadas à redução da produção de ácido D- e L-láctico por *Lactobacillus* spp. vaginal (BORGOGNA *et al.*, 2021), desestabilizando a principal atividade secretória protetiva destas bactérias.

Entre as amostras CST IV-B clássica, *Gardnerella vaginalis* foi a bactéria anaeróbia mais prevalente, seguida por *Atopobium vaginae*, *Megasphaera* e *BVAB2*, dados que corroboram com a literatura, que apontam esse micro-organismo como o principal agente etiológico nas vaginites bacterianas (DE SETA *et al.*, 2022; SARAF *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que de acordo com Hardy *et al.* (2016), Castro *et al.* (2020) e Numanovic *et al.*, (2021), *Gardnerella* e *Atopobium* podem ser encontradas simultaneamente em pacientes com VB, achados semelhantes foram observados no presente estudo. Os autores descrevem que essa simbiose pode ser benéfica para infecção, devido a formação de biofilme e consequente dificuldade de se retomar uma MBV saudável (CASTRO *et al.*, 2020; HARDY *et al.*, 2016). Essa associação corrobora mais ainda com a hipótese de que a VB se trata de uma infecção polimicrobiana (CASTRO *et al.*, 2020).

Já as 52 amostras classificadas como CST IV-B com *L. crispatus* em quantidades dentro dos valores de referência (situação definida no presente estudo como eubiose) apresentaram além do *L. crispatus*, elevadas quantidades de *L. iners* e *L. jensenii*. Situação semelhante ocorreu em 16 amostras CST IV-B com *L. crispatus* em disbiose por excesso, em que havia grandes quantidades de outras espécies de *Lactobacillus*, nesse caso *L. gasseri*. Tais

achados podem ser explicados pelo fato de que bactérias anaeróbias são produtoras de amins biogênicas, como cadaverina, putrescina e tiramina, capazes de inibir a produção de ácido láctico realizada pelo *Lactobacillus*, facilitando o crescimento de bactérias patogênicas, mesmo na presença destes micro-organismos (BORGOGNA *et al.*, 2021).

Segundo Borgogna *et al.* (2011), quanto maior a concentração de amins biogênicas, maiores são as chances de haver transição de uma microbiota CST III para CST IV e em menor proporção, mas igualmente importante o mesmo fato é observado em microbiotas CST I, que podem evoluir para CST IV. O autor ainda cita o porquê desses micro-organismos estarem presentes em microbiotas de VB, o tempo para responder as mudanças ambientais como alteração de pH (BORGOGNA *et al.*, 2021). Tais dados sustentam os achados deste estudo, em que foi observado a presença de *L. iners* e *L. crispatus* em amostras que de forma simultânea apresentavam bactérias anaeróbias (BORGOGNA *et al.*, 2021).

As amins biogênicas (AB) são pequenas moléculas catiônicas produzidas principalmente por reações de descarboxilação de aminoácidos (AAD), embora as espermina e espermidina sejam produzidas através de modificações da putrescina (BORGOGNA *et al.*, 2021), produzida em grandes quantidades por bactérias causadores de VB.

Além de reduzir as barreiras à colonização microbiana do microambiente vaginal, as amins biogênicas podem influenciar diretamente o crescimento bacteriano e a competitividade. Apenas um estudo, realizado em 1964 por Guirard e Snell, examinou o efeito das AB nas propriedades de crescimento de *Lactobacillus* spp. Os pesquisadores relataram que, a espermidina e a espermina estimulam significativamente a taxa de crescimento de vários *Lactobacillus* spp., enquanto a putrescina e a cadaverina induzem redução de crescimento dos *Lactobacillus* spp. (GUIRARD; SNELL, 1964). Com base neste estudo, Borgogna *et al.* (2021) confirmaram que espermina e espermidina, principalmente a primeira, foram mais efetivas em manter uma pontuação de Nugent estável de 0 a 3, reduzindo as chances de transição para uma pontuação Nugent de 7 a 10 (BORGOGNA *et al.*, 2021), confirmando indiretamente a hipótese levantada por Guirard e Snell (1964).

Com base nestes achados, podemos elucubrar que o aumento de *Lactobacillus* spp. associados à presença de VB/anaeróbios, pode estar diretamente relacionado ao aumento da produção de amins biogênicas, principalmente a putrescina, produzidas por bactérias anaeróbias. A putrescina por sua vez pode ser degradada em espermidina e a espermina, que possuem a capacidade de estimular o crescimento de *Lactobacillus* spp. (BORGOGNA *et al.*, 2021; GUIRARD; SNELL, 1964). Embora, como anteriormente citado, o excesso de

putrescina e cadaverina também induzem a redução na produção de ácido láctico por *Lactobacillus* spp. (BORGOGNA *et al.*, 2021), mostrando a capacidade dessas bactérias anaeróbias causadoras de VB produzirem mecanismos de evasão e sobrevivência à ação protetiva dos *Lactobacillus* spp., mostrando sua adaptabilidade como patógeno em desenvolver infecção no hospedeiro.

Embora outros estudos precisem ser realizados para responder a esta hipótese, a demonstração laboratorial de que este evento biológico ocorre em mulheres com VB, fica aqui registrada neste estudo e merece reflexão e novas pesquisas.

Em relação as pacientes classificadas como CST IV – B com *L. crispatus* em eubiose, foi observada a alta incidência de *L. iners* também, este é capaz de produzir apenas o isômero L do ácido láctico, o qual não é capaz de manter o pH ácido da vagina, além disso não é capaz de produzir peróxido de hidrogênio, portanto *L. iners* não é muito eficaz na prevenção da colonização por bactérias patogênicas (ZHENG *et al.*, 2021) sendo assim considerado um marcador de VB, estando presente em microbiotas disbióticas (GOODFELLOW *et al.*, 2021).

*Lactobacillus iners* além de não serem muito eficaz na produção de substâncias bacteriocidas, são capazes de produzirem moléculas de adesão que facilitam a fixação de bactérias causadoras de VB ao epitélio vaginal, diferentemente de outras espécies que produzem moléculas semelhantes que dificultam a instalação de patógenos (CASTRO *et al.*, 2013).

Considerando as pacientes classificadas como CST I, grande parte apresentava disbiose por excesso de *L. crispatus*, desequilíbrio que está presente em quadros de vaginite citolítica (VC). Tais dados são concordantes com os dados encontrados por Xu *et al* (2018), em que *L. crispatus* foi a espécie de de *Lactobacillus* spp. mais prevalentes nas amostras de mulheres com VC, sugerindo que o excesso de *Lactobacillus* spp. também pode ser prejudicial para saúde vaginal (XU *et al.*, 2019).

## 6. CONCLUSÃO

Este estudo por meio da técnica molecular, RT PCR, identificou como principais agentes responsáveis por VB, *Gardenerella vaginalis* e *Atopobium vaginae*. Além de classificar a microbiota de acordo com as *Community State Types* e definir como eubiotica ou disbiótica. Foram identificados apenas dois tipos de CST, CST I e CST IV-B, como algumas amostras não se encaixavam em nenhuma classificação, portanto foi necessário utilizar uma definição alternativa, CST IV-B clássica, CST IV-B com *L. crispatus*, CST IV-B com *L. iners* e CST IV-B com *L. jensenii*. Observou-se que há a presença de *Lactobacillus* spp. em concomitância com bactérias anaeróbias, o que nos faz inferir que nem sempre *Lactobacillus* spp. vão estar ausentes por completo em VB, e que algumas espécies como *L. iners* não são tão eficazes na prevenção de proliferação de anaeróbios na microbiota vaginal. É possível ressaltar também que em alguns casos, como em microbiotas disbióticas por excesso, os *Lactobacillus* não são benéficos para saúde vaginal, sendo responsáveis por quadros de VC ou pela perda de funcionalidade em secreção ácido láctico. Por fim, foi possível concluir que as VB são resultado de uma colonização polimicrobiana, seja por mais de um anaeróbio ou pela presença de *Lactobacillus* spp. e bactérias anaeróbias concomitantemente. Diante disto, este trabalho demonstra a importância da utilização de técnicas moleculares no auxílio do diagnóstico correto das infecções vaginais.

## 7. REFERÊNCIAS

BHAT, RameshM *et al.* Cytolytic vaginosis: A review. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 48, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0253-7184.55490>

BORGOGNA, Joanna-lynn C *et al.* Biogenic Amines Increase the Odds of Bacterial Vaginosis and Affect the Growth of and Lactic Acid Production by Vaginal Lactobacillus spp. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 87, n. 10, p. 1–16, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.03068-20>

BROTMAN, Rebecca M *et al.* Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. **Menopause**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 450–458, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/GME.0b013e3182a4690b>

BURTON, Jeremy P.; REID, Gregor. Evaluation of the Bacterial Vaginal Flora of 20 Postmenopausal Women by Direct (Nugent Score) and Molecular (Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) Techniques. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 186, n. 12, p. 1770–1780, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/345761>

CASTRO, Joana *et al.* Gardnerella vaginalis Enhances Atopobium vaginae Viability in an in vitro Model. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 10, n. March, p. 1–9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00083>

CASTRO, Joana *et al.* Reciprocal Interference between Lactobacillus spp . and Gardnerella vaginalis on Initial Adherence to Epithelial Cells. [s. l.], v. 10, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.7150/ijms.6304>

CHEN, Xiaodi *et al.* The Female Vaginal Microbiome in Health and Bacterial Vaginosis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 11, n. April, p. 1–15, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.631972>

COLEMAN, Jenell S.; GAYDOS, Charlotte A. Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: An update. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 56, n. 9, p. 1–9, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.00342-1>

DANIELSSON, Dan; TEIGEN, Per Kristen; MOI, Harald. The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1230, n. 1, p. 48–58, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06041.x>

DASARI, Subramanyam *et al.* Antimicrobial activity of Lactobacillus against microbial flora of cervicovaginal infections. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 18–24, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60307-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60307-8)

DASARI, Subramanyam. Recent Findings of Lactobacillus Diversity and Their Functional Role in Vaginal Ecosystems. *In: RECENT DEVELOPMENTS IN APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOCHEMISTRY*. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 3–12. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816328-3.00001-5>

DASARI, Subramanyam *et al.* Role of microbial flora in female genital tract: A comprehensive review. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [s. l.], v. 6, n. 11, p. 909–917, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61155-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61155-6)

DE ALMEIDA, Marcelle Oliveira *et al.* Characterization of the first vaginal *Lactobacillus crispatus* genomes isolated in Brazil. **PeerJ**, [s. l.], v. 9, p. 1–24, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.11079>

DE BACKER, Ellen *et al.* Quantitative determination by real-time PCR of four vaginal *Lactobacillus* species, *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* indicates an inverse relationship between *L. gasseri* and *L. iners*. **BMC Microbiology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 115, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-115>

DE SETA, Francesco *et al.* The Vaginal Microbiome: III. The Vaginal Microbiome in Various Urogenital Disorders. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 85–92, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000645>

DENG, Tongyang *et al.* Log ( *Lactobacillus crispatus* / *Gardnerella vaginalis* ): a new indicator of diagnosing bacterial vaginosis. **Bioengineered**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 2981–2991, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2027059>

DIOP, Khoudia *et al.* Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. **Human Microbiome Journal**, [s. l.], v. 11, p. 100051, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.11.002>

FREDRICKS, David N; FIEDLER, Tina L; MARRAZZO, Jeanne M. Molecular Identification of Bacteria Associated with Bacterial Vaginosis. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 353, n. 18, p. 1899–1911, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043802>

GAJER, Pawel *et al.* Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 132, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003605>

GODHA, Keshav *et al.* Human vaginal pH and microbiota: an update. **Gynecological Endocrinology**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 451–455, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1407753>

GOODFELLOW, Laura *et al.* Vaginal bacterial load in the second trimester is associated with early preterm birth recurrence: a nested case–control study. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, [s. l.], v. 128, n. 13, p. 2061–2072, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16816>

HARDY, Liselotte *et al.* A fruitful alliance: The synergy between *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in bacterial vaginosis-associated biofilm. **Sexually Transmitted Infections**, [s. l.], v. 92, n. 7, p. 487–491, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1136/sextrans-2015-052475>

HUANG, Bernice *et al.* The Changing Landscape of the Vaginal Microbiome. **Clinics in Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 747–761, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.08.006>

JOSEY, W. E.; SCHWEBKE, Jane R. The polymicrobial hypothesis of bacterial vaginosis causation: A reassessment. **International Journal of STD and AIDS**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 152–154, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1258/ijsa.2007.007260>

MACHADO, António; CERCA, Nuno. Influence of Biofilm Formation by *Gardnerella vaginalis* and Other Anaerobes on Bacterial Vaginosis. **Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 212, n. 12, p. 1856–1861, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv338>

MARCONI, Camila *et al.* Characterization of the vaginal microbiome in women of reproductive age from 5 Regions in Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, [s. l.], v. 47, n. 8, p. 562–569, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001204>

MARRAZZO, Jeanne M. Interpreting the epidemiology and natural history of bacterial vaginosis: Are we still confused? **Anaerobe**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 186–190, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.016>

MARRAZZO, Jeanne M. *et al.* Safety and efficacy of a novel vaginal anti-infective, TOL-463, in the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: A randomized, single-blind, phase 2, controlled trial. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 803–809, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/ciy554>

MARTIN, DH *et al.* THE MICROBIOTA OF THE HUMAN GENITOURINARY TRACT : TRYING TO SEE THE FOREST THROUGH THE TREES. **TRANSACTIONS OF THE AMERICAN CLINICAL AND CLIMATOLOGICAL ASSOCIATION**, [s. l.], v. 123, p. 242–256, 2012.

NEAL, Chemen M *et al.* Noncandidal vaginitis: a comprehensive approach to diagnosis and management. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [s. l.], v. 222, n. 2, p. 114–122, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.09.001>

OLIVEIRA, Laura Maria Andrade *et al.* Assessment of vaginal microbiota in Brazilian women with and without bacterial vaginosis and comparison with Nugent score. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [s. l.], v. 12, n. 02, p. 127–136, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.9532>

PETROVA, Mariya I. *et al.* Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 6, n. MAR, p. 1–18, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00081>

PRAMANICK, Rinku *et al.* Vaginal microbiota of asymptomatic bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: Are they different from normal microbiota? **Microbial Pathogenesis**, [s. l.], v. 134, n. February, p. 103599, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103599>

RAVEL, Jacques *et al.* Vaginal microbiome of reproductive-age women. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 108, n. SUPPL. 1, p. 4680–4687, 2011a. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>

RAVEL, Jacques *et al.* Vaginal microbiome of reproductive-age women. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 108, n. supplement\_1, p. 4680–4687, 2011b. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>

ROMERO, Roberto *et al.* The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. **Microbiome**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 4, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-4>

SARAF, Viqar Sayeed *et al.* Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 203, n. 7, p. 3793–3802, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02414-3>

SMITH, Steven B; RAVEL, Jacques. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 595, n. 2, p. 451–463, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1113/JP271694>

VAN DE WIJGERT, Janneke H. H. M. *et al.* The Vaginal Microbiota: What Have We Learned after a Decade of Molecular Characterization? **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. e105998, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105998>

VAZQUEZ, Fernando; FERNÁNDEZ-BLÁZQUEZ, Ana; GARCÍA, Beatriz. Vaginosis. Microbiota vaginal. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [s. l.], v. 37, n. 9, p. 592–601, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.11.009>

VIEIRA-BAPTISTA, Pedro; BORNSTEIN, Jacob. Candidiasis, Bacterial Vaginosis, Trichomoniasis and Other Vaginal Conditions Affecting the Vulva. *In: VULVAR DISEASE*. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 167–205. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-61621-6\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61621-6_24)

WITKIN, SS; LINHARES, IM. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, [s. l.], v. 124, n. 4, p. 606–611, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14390>

XU, Haihong *et al.* Characterization of the vaginal microbiome during cytolytic vaginosis using high-throughput sequencing. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. e22653, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcla.22653>

YANG, Shuhua *et al.* Variation of the Vaginal Lactobacillus Microbiome in Cytolytic Vaginosis. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 417–420, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000565>

ZHENG, Nengneng *et al.* Contribution of Lactobacillus iners to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 11, n.

November, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.792787>

## 8. APÊNDICE

### 8.1. Parecer Consubstanciado de aprovação do CEP-FS

UNB - FACULDADE DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL HUMANA

**Pesquisador:** Yanna Karla de Medeiros Nóbrega

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 44060621.7.0000.0030

**Instituição Proponente:** Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.767.583

##### Apresentação do Projeto:

###### Resumo

"A microbiota vaginal humana é composta majoritariamente por *Lactobacillus* spp., mas sua composição pode variar ao longo da vida da mulher, apresenta um papel importante na prevenção da colonização por organismos patogênicos, incluindo agentes infecciosos do trato urinário e doenças sexualmente transmissíveis, e atua na manutenção da saúde reprodutiva e ginecológica da mulher. Este trabalho tem como proposta a avaliação da microbiota vaginal e das infecções vaginais mais prevalentes, Candidíase (CVV) e vaginose bacteriana (VB), além da existência de possíveis infecções mistas que serão avaliadas a partir de resultados de exames laboratoriais realizados rotineiramente em laboratório privado de Análises Clínicas. Os resultados finais da pesquisa serão publicados como parte de uma dissertação de mestrado, e pretendem além de contribuir para a importância do diagnóstico laboratorial e do estudo da prevalência dessas patologias estudadas, produzir informação sobre a existência de infecções mista, atualmente pouco publicadas na literatura, bem como identificar os principais agentes etiológicos envolvidos nestas infecções vaginais."

**Metodologia:** "Este trabalho será realizado com resultados de exames gram de secreção vaginal e painéis moleculares de: Candida, vaginose bacteriana e microbioma vaginal ou IST realizados pelo Laboratório Euroexame, que serão selecionados de acordo com as informações presentes no

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3103-1947 E-mail: cepfsunb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.767.583

sistema de cadastro do laboratório no período de 31/12/2018 a 31/12/2020, e que fazem parte do banco de dados do laboratório.”

“Todos os resultados de exames laboratoriais relacionados acima serão compilados pelo laboratório Euroexame, empregando o Software de gestão de laudos laboratoriais utilizado no laboratório, programa Uniware. Para este estudo serão considerados apenas os pacientes que apresentem todos os resultados que compõem o rol de exames selecionados para a pesquisa. Eventualmente pacientes com dados faltantes serão retirados da pesquisa.

Os dados serão compilados pelo laboratório e transformados em excel com uma sequência numérica sem dados dos pacientes e sem número de identificação do laboratório para garantir a anonimização dos dados que serão analisados pelos pesquisadores empregando programas estatísticos necessários e adequados às análises. O Laboratório disponibilizará as seguintes variáveis para análise: sexo, data de nascimento, variáveis laboratoriais presentes no resultado de cada exame

Interpretação de dados a partir dos exames

Os dados coletados a partir de resultados de exames de GRAM terão identificação microscópica da presença de processo infeccioso causado por candidíase e pelas vaginoses bacterianas, entretanto essa metodologia é considerada um exame de triagem por não conseguir realizar a identificação precisa dos agentes etiológicos, o que pode ser realizado com precisão através dos exames realizados pela metodologia de RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real), que confirmarão o diagnóstico através da identificação molecular precisa da presença destas infecções, que podem estar presentes de forma mista ou isoladas, com caracterização da presença do agente etiológico identificado e a quantificação exata da Microbiota Vaginal na paciente. Desta forma, as informações presentes nos exames selecionados para o estudo são complementares, e os exames de forma combinada permitirão avaliar se existe subnotificações da coexistência de candidíase e vaginose bacteriana, e identificar a prevalência destas infecções na população estudada de forma isolada e combinada (presença das duas infecções).

#### Critério de Inclusão

“Os critérios de seleção, na escolha das amostras, serão: Inclusão de todos os resultados dos exames de pacientes que realizaram os exames alvo da pesquisa durante o período acima citado, ressaltando que os dados dos pacientes serão mantidos em sigilo pelo laboratório Euroexame, e quando enviados aos pesquisadores estarão sob registro numérico sequencial organizado pelo laboratório, não sendo possível ter acesso à identidade dos pacientes envolvidos na pesquisa,

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cep@unb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.787.503

apenas à sua data de nascimento, sexo e resultados dos exames laboratoriais. O presente trabalho será submetido ao Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP-FCS).

#### Crerios de exclusão

"Serão excluidos da pesquisa, todos os pacientes cujos resultados de exames não estejam completos, considerando os exames a serem avaliados. "

**DISPENSA DE TCLE:** "No projeto acima citado, serão utilizados dados de resultados laboratoriais, cujos resultados foram realizados pelo laboratório EUROEXAME DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EIRELI. Estes resultados são estritamente confidenciais e o EUROEXAME garante sigilo absoluto, tornando-se único detentor dos registros de Resultados. Neste projeto serão apenas utilizados resultados dos exames e dados referentes aos pacientes (como sexo, idade, local do exame, entre outros), sendo preservada a identidade do paciente que é codificada, reduzindo os riscos ao mínimo esperado. Tendo em vista que a pesquisa não envolverá diretamente seres humanos e o estudo será realizado apenas com dados laboratoriais, solicitamos a dispensa do TCLE, a fim de identificarmos a prevalência das principais infecções vaginais (Candidíase vulvovaginal e Vaginose bacteriana) com diagnóstico laboratorial confirmado. Como é um tema com poucos estudos laboratoriais, os dados poderão apontar a importância do diagnóstico para estas infecções e propiciar tratamento adequado destas, que podem estar sendo subdiagnosticadas e tratadas incorretamente, o que gera recorrência das infecções, bem como perda de qualidade de vida do paciente, considerando os aspectos sexuais, psicológicos e fisiopatológicos provocados por estas infecções vaginais."

#### Objetivo da Pesquisa:

"Objetivo geral

Avaliar a microbiota vaginal humana.

Objetivos específicos

Identificar as principais espécies de bactérias presentes em vaginose bacterianas;

Identificar as espécies de Candida responsáveis por candidíase vulvovaginais;

Analisar possíveis infecções mistas; "

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"De acordo com legislação atual, os riscos envolvidos em "Estudos que empregam técnicas e métodos retrospectivos de pesquisa e aqueles em que não se realiza nenhuma intervenção ou modificação intencional nas variáveis fisiológicas ou psicológicas e sociais dos indivíduos que

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-000  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepfcurb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.787.503

participam no estudo, entre os quais se consideram: questionários, entrevistas, revisão de prontuários clínicos e outros, nos quais não se identifique nem seja invasivo à intimidade do indivíduo" são considerados como risco. Os riscos teóricos envolvidos estão relacionados à quebra de sigilo e confidencialidade, e para minimizar esse risco, os dados serão identificados em ordem numérica cronológica pelo laboratório Euroexame, e em nenhuma hipótese os pesquisadores terão acesso aos dados de identificação de paciente. Para garantir isenção e responsabilidade com os dados, os pesquisadores assinaram declaração de sigilo e confidencialidade para trabalhar com o banco de dados. Os pesquisadores avaliam que estes riscos são de baixo impacto.

Em relação aos benefícios, os resultados obtidos com esta pesquisa poderão contribuir para evidenciar a relevância do diagnóstico laboratorial realizado adequadamente, contribuindo para novos desfechos diagnósticos e quíça terapêuticos, que após publicação científica poderá alcançar muitos profissionais de saúde e pesquisadores, contribuindo para o despertar de outras pesquisas."

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

"Trata-se da dissertação de mestrado da aluna Ana Paula Carvalho de Araújo, do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, sob orientação da Profa. Yanna Karla Medeiros Nóbrega, que é a pesquisadora responsável.

O cronograma prevê a compilação dos dados no segundo semestre de 2021.

Orçamento no valor total de R\$ 500,00.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentos acrescentados ao processo e analisados para emissão deste parecer:

- 1- Informações básicas do projeto, "PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1700970.pdf" postado em 10/05/2021;
- 2- Cronograma, "Cronograma\_anual.docx" postado em 10/05/2021;
- 3- Carta de respostas às pendências apontadas no Parecer Consubstanciado No. 4.641.542, "CARTA\_DE\_RESPOSTAS\_PENDENCIAS\_CEP.doc" postada em 10/05/2021;
- 4- Projeto de pesquisa, "ProjetoDePesquisaCEPFS\_042021.pdf" postado em 30/04/2021.

**Recomendações:**

Não se aplicam.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Análise das de respostas às pendências apontadas no Parecer Consubstanciado No. 4.641.542:

1 QUANTO AO PROJETO DETALHADO:

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepfurb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.767.503

1.1 No item riscos e benefícios consta: "De acordo com legislação atual, os riscos envolvidos em "Estudos que empregam técnicas e métodos retrospectivos de pesquisa e aqueles em que não se realiza nenhuma intervenção ou modificação intencional nas variáveis fisiológicas ou psicológicas e sociais dos indivíduos que participam no estudo, entre os quais se consideram: questionários, entrevistas, revisão de prontuários clínicos e outros, nos quais não se identifique nem seja invasivo à intimidade do indivíduo" são considerados como risco mínimo." Segundo a Resolução CNS 466/2012 não há gradações estabelecidas de risco em pesquisa. Portanto, solicita-se a exclusão do termo "mínimo"

RESPOSTA: O item do Projeto de Pesquisa a que se refere o trecho acima é o de número 7. Riscos e Benefícios (página 8 linha 22), conforme solicitado a palavra "mínimo" foi suprimida do texto.

ANÁLISE: As adequações encontram-se em ProjetoDePesquisaCEPFS\_042021.pdf. PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2 Uma das justificativas da importância do estudo é que este estudo permitirá avaliar se existem subnotificações da coexistência de candidíase e vaginose bacteriana quando não se utiliza os métodos propostos no projeto. No entanto, não está claro na metodologia como isso será feito.

RESPOSTA: Foi adicionado no projeto o item abaixo na página 7 linhas 17-30 que resume na metodologia a importância dos exames e a relação entre eles.

### 3.5. Interpretação de dados a partir dos exames

Os dados coletados a partir de resultados de exames de GRAM terão identificação microscópica da presença de processo infeccioso causado por candidíase e pelas vaginoses bacterianas, entretanto essa metodologia é considerada um exame de triagem por não conseguir realizar a identificação precisa dos agentes etiológicos, o que pode ser realizado com precisão através dos exames realizados pela metodologia de RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real), que confirmarão o diagnóstico através da identificação molecular precisa da presença destas infecções, que podem estar presentes de forma mista ou isoladas, com caracterização da presença do agente etiológico identificado e a quantificação exata da Microbiota Vaginal na paciente. Desta forma, as informações presentes nos exames selecionados para o estudo são complementares, e os exames de forma combinada permitirão avaliar se existe subnotificações da coexistência de candidíase e vaginose bacteriana, e identificar a prevalência destas infecções na população estudada de forma isolada e combinada (presença das duas infecções).

ANÁLISE: As adequações encontram-se em ProjetoDePesquisaCEPFS\_042021.pdf. PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.767.503

## 2. QUANTO AO CRONOGRAMA

O cronograma foi apresentado na forma de semestres sem especificar o ano. Solicita-se que o cronograma seja apresentado mês a mês e especificando o ano.

RESPOSTA: O cronograma foi refeito e identificado como Cronograma\_anual

ANÁLISE: As adequações encontram-se em Cronograma\_anual.docx . PENDÊNCIA ATENDIDA

3. QUANTO A GOLETA DE DADOS, a pesquisadora informa que "Neste projeto serão apenas utilizados resultados dos exames e dados referentes aos pacientes (como sexo, idade, LOCAL DO EXAME, ENTRE OUTROS)..." (DESTAQUE NOSSO).

3.1 Solicita-se explicitar todos os dados que serão coletados.

RESPOSTA: Para atender a esta solicitação o item 3.4 do projeto foi modificado (página 7 linhas 6-18)

3.4. Análise e anonimização de dados

Todos os resultados de exames laboratoriais relacionados acima serão compilados pelo laboratório Euroexame, empregando o Software de gestão de laudos laboratoriais utilizado no laboratório, programa Uniware. Para este estudo serão considerados apenas os pacientes que apresentem todos os resultados que compõem o rol de exames selecionados para a pesquisa. Eventualmente pacientes com dados faltantes serão retirados da pesquisa.

Os dados serão compilados pelo laboratório e transformados em excel com uma sequência numérica sem dados dos pacientes e sem número de identificação do laboratório para garantir a anonimização dos dados que serão analisados pelos pesquisadores empregando programas estatísticos necessários e adequados às análises. O Laboratório disponibilizará as seguintes variáveis para análise: sexo, data de nascimento, variáveis laboratoriais presentes no resultado de cada exame

ANÁLISE: As adequações encontram-se em ProjetoDePesquisaCEPFS\_042021.pdf. PENDÊNCIA ATENDIDA

3.2 Solicita-se informar como se dará a anonimização de dados fornecidos pelo laboratório. Por exemplo, como serão codificados o nome dos clientes.

RESPOSTA: A anonimização dos dados está descrita no item 3.4 do projeto conforme trecho citado no item anterior. Essa informação também foi ratificada no item 4.1 do projeto página 8 (linhas 2-10) onde se lê trecho abaixo citado:

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepf@unb@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.707.503

#### 4.1. Critério de Inclusão

Os critérios de seleção, na escolha das amostras, serão: inclusão de todos os resultados dos exames de pacientes que realizaram os exames alvo da pesquisa durante o período acima citado, ressaltando que os dados dos pacientes serão mantidos em sigilo pelo laboratório Euroexame, e quando enviados aos pesquisadores estarão sob registro numérico sequencial organizado pelo laboratório, não sendo possível ter acesso à identidade dos pacientes envolvidos na pesquisa, apenas à sua data de nascimento, sexo e resultados dos exames laboratoriais. O presente trabalho será submetido ao Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP-FS).

ANÁLISE: As adequações encontram-se em ProjetoDePesquisaCEPFS\_042021.pdf. PENDÊNCIA ATENDIDA

3.3 Considerando que a coleta de dados inclui o "local do exame", solicita-se informar que tipo de relação será realizada com o local do exame. Deve-se considerar a possibilidade de estigmatizar a população de determinada região.

RESPOSTA: Não ficou muito clara a pergunta formulada acima, mas os pesquisadores explicarão aqui para tentar elucidar o questionamento. Se o termo "local do exame" está se referindo ao material coletado, todos os exames possuem o mesmo material coletado, que é secreção vaginal, o que não estabelece nenhum grau de nexa. Entretanto se está fazendo menção ao laboratório, a população atendida por ele é a população do Distrito Federal e Cidades Adjacentes, e não teremos acesso à dados do paciente como: endereço, bairro, cidade, portanto, não conseguiremos identificar ou estratificar a população estudada por localização, não havendo possibilidade de estigmatização da população estudada por região.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram atendidas.

Não há óbices éticos para a realização do presente protocolo de pesquisa.

#### Considerações Finais e critério do CEP:

Conforme Resolução CNS 466/2012, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, e Resolução CNS 510/2016, Art. 28, Inc. V, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro	
Bairro: Asa Norte	CEP: 70.910-900
UF: DF	Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1947	E-mail: cepfsunb@gmail.com

UNB - FACULDADE DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



Continuação do Processo: 4.767.503

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1700970.pdf	10/05/2021 09:32:17		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1700970.pdf	10/05/2021 09:23:22		Aceito
Cronograma	Cronograma_anual.docx	10/05/2021 09:21:10	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	CARTA_DE_RESPOSTAS_PENDENCIAS_CEP.pdf	10/05/2021 09:20:30	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	ProjetoDePesquisaCEPF3_042021.pdf	30/04/2021 07:51:23	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDePesquisaCEPF3_042021.docx	30/04/2021 07:51:04	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	Lattes_AnaPaula.pdf	03/03/2021 16:08:31	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	Lattes_Yanna.pdf	03/03/2021 16:08:11	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConcordProponenteAss.pdf	22/02/2021 23:46:20	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConcordProponente.doc	22/02/2021 23:15:40	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.pdf	22/02/2021 23:14:14	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.doc	22/02/2021 23:13:57	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConfidencialidadeSigiloAnaPaula.pdf	22/02/2021 23:11:34	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConfidencialidadeSigiloYanna.doc	22/02/2021 23:11:07	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConfidencialidadeSigiloYanna.pdf	22/02/2021 23:10:44	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoRespCompromPesq.pdf	22/02/2021 23:10:07	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoRespCompromPesq.doc	22/02/2021 23:09:50	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Declaração de concordância	TermoConcordCoparticipanteAss.pdf	22/02/2021 23:09:29	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Outros	TermoConcordCoparticipante.doc	22/02/2021 23:09:13	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_encaminhamento_projeto_ao_CEPF3.docx	22/02/2021 23:08:27	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Declaração de	carta_encaminhamento_projeto_ao_C	22/02/2021	Yanna Karla de	Aceito

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepf@unb@gmail.com

UNB - FACULDADE DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 4.767.503

Pesquisadores	EPFS.pdf	23:08:14	Medeiros Nóbrega	Aceito
Orçamento	Orçamento.pdf	22/02/2021 23:07:54	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoAss.pdf	22/02/2021 23:06:47	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	12/02/2021 05:58:09	Yanna Karla de Medeiros Nóbrega	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASÍLIA, 11 de Junho de 2021

---

Assinado por:  
**Marie Togashi**  
(Coordenador(a))

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro  
Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-000  
UF: DF Município: BRASÍLIA  
Telefone: (61)3107-1947 E-mail: capf@unb@gmail.com