

CHECKUP GINECOLÓGICO (CITOLOGIA LÍQUIDA + MICROBIOMA VAGINAL + HPV COM GENOTIPAGEM) NGS [cód. 999999]

INFORMAÇÕES GERAIS

NOME DO EXAME

Checkup Ginecológico (Citologia Líquida + Microbioma Vaginal + HPV com genotipagem)

OUTROS NOMES DO EXAME

Citologia Líquida; Microbioma Vaginal; HPV com genotipagem; Checkup Ginecológico; Microbiota Vaginal; Flora vaginal; Estudo de Disbiose Vaginal; Microbiota Cérvico Vaginal; Microrganismos Vaginais; Eubiose Vaginal; Micróbios Vaginais; Comunidade Microbiana Vaginal; Disbiose Vaginal; Microbioma Excluindo Pesquisa de HPV; MV;

UTILIDADE DO EXAME

Existe uma comunidade microbiana única no trato genital feminino, conhecida como microbiota vaginal, que varia em composição e densidade e proporciona benefícios significativos durante a gravidez, ciclo reprodutivo, parto saudável do recém-nascido, proteção contra parto prematuro, infecções no trato urinário, vaginose bacteriana e assim por diante, e melhora a eficácia dos tratamentos para câncer vaginal. Estudos metagenômicos (sequenciamento do DNA de uma comunidade inteira de microrganismos, em oposição ao sequenciamento de micróbios individuais) conseguem desvendar as complexidades de microbiomas baseadas nos avanços do sequenciamento de alto rendimento e na bioinformática.

O uso de tecnologias e estratégias modernas para Microbioma Vaginal, colocam este Checkup Ginecológico no patamar de outros procedimentos inovadores ginecológicos como técnicas avançadas de imagem, cirurgia assistida por robótica, testes pré-natais não invasivos, PGT-A, telemedicina e inteligência artificial, para citar alguns.

Empregando a tecnologia avançada de sequenciamento de alto rendimento (NGS) do 16S rRNA (um segmento conservado do DNA bacteriano e único para cada bactéria), pode-se sondar a diversidade de micróbios presentes no conteúdo vaginal. Esta abordagem permite a taxonomia da microbiota vaginal e revela detalhes como a riqueza, abundância e distribuição de espécies microbianas.

NECESSIDADE DE PEDIDO MÉDICO

O pedido médico deve ser enviado juntamente com a amostra.

COBERTURA OPERADORA PLANO DE SAÚDE

Alguns itens do exame são cobertos pelas operadoras de plano de saúde como Citologia de base líquida, HPV e genotipagem.

NECESSIDADE DE CONSENTIMENTO

Não há necessidade de Consentimento

PREPARAÇÃO DA PACIENTE;

Este exame quantifica o DNA de um número enorme de espécies diferentes de bactérias algumas das quais seu DNA pode estar em uma ínfima quantidade ao lado de outras em número abundante. Então todos os esforços devem ser feitos para evitar a degradação do DNA que representa o processo de ruptura de fitas simples e seu fracionamento.

As fontes de degradação incluem agentes químicos como polissacarídeos, lipídios, polifenóis ou álcool que podem estar presente na composição de soluções usadas na higiene pessoal assim como líquidos detergentes que rompem as células, destruindo as membranas gordurosas que as envolvem e liberando o conteúdo das células, incluindo DNA. Por outro lado o sangue contém vários inibidores de enzimas que podem interferir na análise de DNA.

A paciente deve 48 horas antes da coleta da amostra não ter usado ducha íntima (ducha intravaginal), não ter tido relações sexuais, mesmo com preservativo, e não utilizar medicamento de uso tópico ou cremes vaginais.

AMOSTRA

INSTRUÇÕES DE COLETA E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA

A coleta do exame de microbioma vaginal deve ser feita antes da coleta de amostras para citologia. Para coleta use o tubo de coleta que contém 4 ml de líquido preservante e a haste coletora com swab fornecido no kit da Genoa/LPCM. Importante é não utilizar espéculo para medição de pH e obtenção da amostra para microbioma vaginal uma vez que muitos deles contêm lubrificantes na face externa que bloqueiam as reações de processamento molecular.

O procedimento para obtenção de espécimes vaginais inclui coleta as secreções usando um swab estéril direto do fórnice vaginal posterior, ou pelo menos raspagem da mucosa vaginal na sua porção medial. Coloque o swab de coleta de amostra na vagina e gire-o suavemente no sentido horário por 10 a 30 segundos. Certifique-se de que o swab toque as paredes vaginais para que o muco seja absorvido pelo swab e retire-o cuidadosamente, evitando tocar na pele. A haste do swab tem um ponto de fratura e desta maneira mande o tubo coletor com a porção distal da haste imersa no líquido conservante. Evite “lavar” o swab na solução estabilizadora e dispensá-lo como é feito na amostragem de citologia de base líquida. Feche bem o tubo de transporte de amostra do swab para minimizar o risco de contaminação e transporte-o para o laboratório em temperatura ambiente.

Após coleta da amostra para Microbioma e leitura do pH vaginal, proceda a coleta de citologia líquida de acordo com os procedimentos de rotina.

MEDIÇÃO DO PH

Antes da coleta, sempre que possível, registrar o pH da mucosa vaginal usando uma tira de pH. Ela não fornecerá dados precisos como de um pHmetro, mas como as tiras são feitas de tipos diferentes de produtos químicos, cada um com sua própria faixa de medição (geralmente dentro de intervalos entre 4 e 7), teremos uma boa indicação da acidez ou alcalinidade do meio vaginal.

A faixa saudável de pH vaginal está entre 3,8-4,5. O pH vaginal baixo indica níveis elevados de produção de ácido láctico pelas espécies de *Lactobacillus* e, portanto, uma microbiota vaginal saudável e disbiose mínima.

O pH vaginal baixo reduz o crescimento de bactérias associadas à VB e patógenos de IST (por exemplo, *Chlamydia trachomatis*) e favorece o domínio dos lactobacilos. O pH vaginal elevado (>4,5) é indicativo de crescimento excessivo de bactérias associadas à VB e disbiose vaginal.

MÉTODO

DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA

A caracterização das bactérias presentes na amostra é realizada através do sequenciamento de nova geração (NGS) baseado na metodologia de 'sequence by synthesis'. Após análise computacional é possível determinar as espécies presentes e suas quantidades relativas. A diversidade de espécies é um parâmetro importante que, quando elevado, pode indicar uma disbiose.

A interpretação dos dados brutos obtidos nesse estudo considera o atual desenvolvimento científico, mas pode ser modificado no futuro com a inclusão de novos conhecimentos e dados terapêuticos. Informações filogenéticas disponíveis em bancos de dados de árvore taxonômica e ferramentas de bioinformática utilizadas podem ainda não fazer a distinção entre espécies semelhantes. Neste caso algumas bactérias são classificadas taxonomicamente no nível mais alto possível, ou seja, gênero, família ou filo. Pela extensão do laudo deste exame ele não será impresso, mas emitido via internet e estará disponível ao paciente e médico solicitante.

ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE

A sensibilidade e especificidade dos testes diagnósticos para desequilíbrios do microbioma vaginal, frequentemente excede 80% para detecção de BV. Quando o escore de Nugent foi considerado como referência, a sensibilidade para BV era de 69,6%, mas para a combinação de dados clínicos e pH, passou para 87,6%.

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA

RESULTADO E INTERPRETAÇÃO

A microbiota vaginal é um ecossistema dinâmico e complexo composto por populações flutuantes que modulam as respostas imunológicas do hospedeiro e mantêm a homeostase. A perturbação da composição e funções da microbiota, denominada disbiose, tem sido associada a uma série de doenças, incluindo Vaginose Bacteriana (VB), parto prematuro em mulheres grávidas, infertilidade, abortos espontâneos e aumento do risco de infecções sexualmente transmissíveis (IST). A análise e monitorização da microbiota vaginal são, portanto, extremamente importantes para a saúde e podem ser utilizadas para informar planos de tratamento e fatores de estilo de vida.

O perfil obtido do microbioma vaginal fornece uma medição precisa, confiável e quantificável da abundância da microbiota. Microbioma Vaginal refere-se então ao conjunto único de microrganismos que residem naturalmente na vagina. A composição desse microbioma desempenha um papel crucial na manutenção da saúde vaginal e prevenção de infecções. Os principais componentes do microbioma vaginal em mulheres saudáveis geralmente incluem espécies de bactérias *Lactobacillus*.

OBSERVAÇÕES

As sequências de DNA são interpretadas e examinadas com ferramentas modernas de bioinformática para o processamento e análise de grandes volumes de dados. A conclusão deste estudo vai se apoiar na corroboração com dados clínicos que incluem menopausa, gestação, pílula, DIU, tratamento hormonal, vaginose sintomática (dor, corrimento, queimação, odor, disuria), uso recente de antibióticos ou drogas imunossupressoras, bactérias detectadas em exames anteriores, abortos, etc.

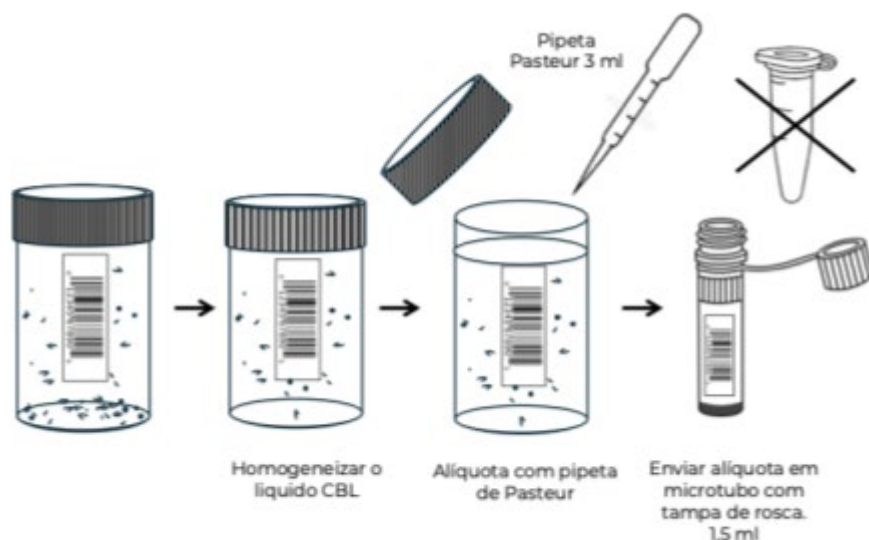
Aliquotagem de amostras para exames moleculares

Alíquota refere-se a uma parte ou porção representativa de uma amostra maior, que é separada para ser utilizada em outro experimento.

Para que nenhuma informação seja perdida nesse processo, o laboratório deve manter um controle de alíquotas e, em um primeiro momento, o técnico identifica o microtubo que receberá a alíquota e, ao mesmo tempo, a registra no sistema. A alíquota deve ser realizada por um técnico de laboratório familiarizado com os objetivos e os resultados esperados.

O exemplo de aliquotagem será do líquido de Citologia de Base Líquida (CBL). A CBL, também conhecida como citologia oncológica em meio líquido ou citologia em meio líquido, é uma técnica onde, ao invés de raspagens na lâmina, as células são coletadas e suspensas em um líquido preservante com metanol, que é tóxico, requerendo uso de luvas.

O líquido da CBL pode conter células livres, debris, células inflamatórias, hemácias, bactérias, vírus, fungos, protozoários, DNA livre, espermatozoides, fibrina, resíduos de cremes, outras substâncias usadas na lavagem vaginal, e mais. Essas partículas estão parcialmente livres no líquido ou sedimentadas no fundo, e o exame de Patologia Molecular busca extrair todo o DNA e RNA presentes na amostra.



O técnico deve homogeneizar a amostra para que tudo seja representado, submetendo-a a forte agitação motora. Em seguida, transferir 1,5 ml desse líquido usando uma pipeta de Pasteur para o microtubo e descartá-lo. Usar um microtubo com tampa de rosca (Kasvi é recomendado) e nunca um microtubo de fechamento por pressão, pois este pode abrir espontaneamente no traslado ao laboratório. Lembre-se: se aliquotar mais do que o necessário (CBL originalmente contém 18 ml de preservante), pode-se interferir no processamento automático da citologia por pouco líquido. Nestes casos, o técnico deverá repor o volume com líquido preservante ou, na falta deste, com álcool 70%.

Medidas para aliquotagem abaixo. Dica: se enviar ≥ 4 ml, utilize um tubo Falcon (ou similar) de 15 ml, como na figura ao lado.

- PCR para HPV - 2 ml
- PCR para Painei Ginecológico - 2 ml
- PCR para HPV e Painei Ginecológico - 2 ml
- Captura Híbrida HPV - 4 ml
- Captura para HPV + PCR para HPV - 6 ml
- Captura para HPV + PCR para painei ginecológico - 6 ml
- Captura para HPV + PCR para HPV e painei ginecológico - 6 ml.

