

# Associação entre cultura de secreção vaginal, características sociodemográficas e manifestações clínicas de pacientes com diagnóstico de candidíase vulvovaginal

*Association between vaginal secretion culture, socio-demographic characteristics and clinical manifestations of patients with vulvovaginal candidiasis*

MÁRCIO TAVARES RODRIGUES<sup>1</sup>

ANA CAROLINA GONÇALVES<sup>1</sup>

MARIANA CAROLINA TOCANTINS ALVIM<sup>1</sup>

DIDIER SILVEIRA CASTELLANO FILHO<sup>2</sup>

JULIANA BARROSO ZIMMERMANN<sup>3</sup>

VÂNIA LÚCIA DA SILVA<sup>1</sup>

CLÁUDIO GALUPPO DINIZ<sup>1</sup>

## Artigo Original

### Palavras-chave

Candidíase vulvovaginal/microbiologia  
*Candida*  
Diagnóstico clínico

### Keywords

Candidiasis, vulvovaginal/microbiology  
*Candida*  
Clinical diagnosis

### Resumo

**OBJETIVO:** Investigar a etiologia, o perfil epidemiológico de pacientes com candidíase vulvovaginal (CVV) e possíveis fatores predisponentes. **MÉTODOS:** Secreção vaginal das pacientes foi semeada em ágar Sabouraud e amostras de leveduras foram isoladas e identificadas por *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dados demográficos, clínicos e fatores predisponentes foram obtidos por meio de questionário. Para análise estatística, foram utilizados os testes t de Student, Fischer e do  $\chi^2$ , com auxílio do *software* Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), com nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** Foram avaliadas 69 pacientes, com idade entre 15 e 52 anos, predominando mulheres brancas (79,7%), com escolaridade de nível superior completo (58%), casadas (56,5%) e com vida sexual ativa (97,1%). Dentre elas, 34,8% eram gestantes, 7,2% diabéticas, 1,4% soropositivas para AIDS e 36,2% usavam anticoncepcional oral. Antibioticoterapia recente foi citada por 13% das pacientes, uso de antifúngico por 5,8% e de antitricomonas por 1,4%. Uso de corticosteroides foi relatado por 2,9% das participantes e de antineoplásicos, por 1,4%. Fluxo vaginal e prurido foram as principais queixas apresentadas, respectivamente, por 97,1 e 73,9% das pacientes, seguido de ardência (63,8%) e hiperemia (63,8%). Quando presente, o fluxo foi majoritariamente branco (88,1%) ou grumoso (86,6%). O diagnóstico foi confirmado pela cultura em 55 (79,7%) pacientes, sendo 4 casos de infecção mista. A espécie prevalente foi *C. albicans*, seguida por um caso de *C. glabrata*, que foi encontrada em mais duas pacientes em associação com *C. albicans*. Nas outras duas infecções polimicrobianas, *C. lusitanae* foi isolada com *C. albicans*. **CONCLUSÕES:** Embora a positividade da cultura tenha sido alta e os dados clínicos de CW sejam característicos, a sintomatologia não é patognomônica. *C. albicans* é a espécie prevalente, mas deve-se atentar para a ocorrência de outras espécies na etiologia de CW, como a emergência de *C. lusitanae*.

### Abstract

**PURPOSE:** To investigate the etiology and the epidemiological profile of patients with vulvovaginal candidiasis (VVC) and predisposing factors. **METHODS:** Vaginal secretions were streaked in Sabouraud agar and yeast samples were isolated and identified by *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Demographic and clinical data were obtained with a questionnaire. For statistical analysis, the Student's t test, the  $\chi^2$  and Fischer tests were applied as needed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software, with the level of significance set at 5%. **RESULTS:** Sixty-nine patients aged from 15 to 52 years were evaluated. They were predominantly white (79.7%), with higher education (58%), married (56.5%) and sexually active (97.1%). Among them, 34.8% were pregnant, 7.2% diabetic, 1.4% seropositive for AIDS, and 36.2% were using oral contraceptives. Recent antibiotic therapy was mentioned by 13% of the patients, and antifungal or anti-trichomonas therapy was mentioned by 5.8 and 1.4% of the patients, respectively. Corticosteroid use was reported by 2.9% and antineoplastic by 1.4%. Vaginal discharge and itching were the main complaints (97.1 and 73.9%), followed by burning (63.8%) and erythema (63.8%). When present, the vaginal flow was predominantly white (88.1%) or lumpy (86.6%). The diagnosis was confirmed by culture in 55 (79.7%) patients, with mixed infections in 4 patients. The most prevalent species was *C. albicans*, followed by *C. glabrata* (one monoinfection and two mixed infections with *C. albicans*). *C. lusitanae* and *C. albicans* were also identified in mixed infections (two patients). **CONCLUSION:** Despite the high culture positivity and clinical data characteristic of VVC, the symptoms were not pathognomonic. *C. albicans* is the most prevalent species, but other species are also involved in VVC etiology, such as the emergence of *C. lusitanae*.

### Correspondência

Cláudio Galuppo Diniz  
Rua José Lourenço Kelmer, s/n  
Campus Universitário  
CEP: 36036-900  
Juiz de Fora (MG), Brasil

### Recebido

25/11/2013

### Aceito com modificações

15/12/2013

Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

<sup>1</sup>Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

<sup>2</sup>Disciplina de Obstetrícia do Curso de Medicina, Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – Juiz de Fora (MG), Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

Fonte de financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (financiamento); PROQUALI/Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF (bolsa).

Conflito de interesses: nada a declarar.

## Introdução

As vulvovaginites, principal queixa nas consultas ginecológicas, referem-se a uma variedade de distúrbios inflamatórios do trato genital inferior, caracterizada por uma tríade de sintomas, como dor vulvovaginal, prurido e ardor, que podem ser secundárias à infecção, irritação, alergia ou doença sistêmica<sup>1</sup>. Embora as causas infecciosas sejam responsáveis por mais de 90% dos casos e incluam vaginose bacteriana, candidíase e tricomoníase, aproximadamente 30% das mulheres sintomáticas permanecem sem diagnóstico após avaliação clínica<sup>1,2</sup>. Recomenda-se que o diagnóstico de infecções vaginais não deva se basear apenas nos dados clínicos e que exames microbiológicos como cultura e teste de susceptibilidade a drogas devam ser incorporados, quando possível, como complementares ao diagnóstico das vulvovaginites<sup>3,4</sup>.

A candidíase vulvovaginal (CVV), associada a diferentes espécies do gênero *Candida*, é a segunda causa de vaginite aguda, depois da vaginose bacteriana. Na Europa e em outras regiões, a CVV é a causa mais comum de vaginite, e estima-se em todo o mundo que 75% das mulheres apresentam, durante a sua vida, pelo menos um episódio de candidíase vulvovaginal<sup>1</sup>. A prevalência de *Candida albicans* na etiologia da CVV é relatada de forma abundante na literatura, embora a ocorrência de outras espécies, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. parapsilosis* tem sido cada vez mais frequente<sup>5-8</sup>. Além disso, outras espécies como *C. krusei*, *C. kefyr* e *C. lusitanae* tem sido apontadas como emergentes<sup>9-15</sup>. A etiologia da CVV tem sido, ainda, associada a mais de uma espécie de *Candida* ou à associação de *Candida* com outros micro-organismos<sup>5,6,12,16,17</sup>.

A doença acomete principalmente as mulheres em idade reprodutiva e caracteriza-se clinicamente pelo prurido vulvar intenso, ardência, leucorreia, dispareunia, disúria, edema e eritema vulvovaginal<sup>17,18</sup>. As formas assintomáticas de CVV estão mais associadas com as espécies de *C. não-albicans*<sup>18</sup>. Não existem manifestações clínicas patognomônicas de CVV, tornando-se importante identificar o agente etiológico para o diagnóstico diferencial de outras vaginites infecciosas<sup>19-21</sup>. Além disso, tem sido observado um aumento na resistência aos derivados azólicos, principalmente entre as espécies de *C. não-albicans* isoladas de pacientes com CVV, sendo este um importante fator para o desenvolvimento dos casos de recorrência<sup>7,8,15,22</sup>.

O tratamento da CVV normalmente é empírico, sendo os derivados azólicos e os poliênicos as drogas mais utilizadas<sup>12,14,22,23</sup>. A maioria das mulheres não responde à terapia inicial, e os casos de recidivas são frequentes, colocando em dúvida a eficácia desses tratamentos. As dificuldades encontradas estão associadas às espécies *C. não-albicans*, que dependem de concentrações maiores de antifúngicos para

serem inibidas<sup>11</sup>. O perfil de susceptibilidade de espécies de *Candida* aos antifúngicos não é o mesmo nas diferentes populações ou comunidades, o que torna fundamental a identificação do agente etiológico causador da candidíase antes de iniciar a terapêutica empírica<sup>11,12,22,23</sup>.

Algumas situações têm sido relatadas como importantes fatores de risco para CVV, como gravidez, uso de antibióticos de amplo espectro, uso de contraceptivos orais, *diabetes mellitus* e imunodeficiências<sup>17,19</sup>. São apontadas ainda como fatores predisponentes de CVV as neoplasias, corticoterapia, dieta alimentar ácida, hábito de usar roupas justas ou de fibra sintética, pequenos traumas durante o ato sexual, ciclos menstruais regulares e hábitos higiênicos inadequados<sup>18</sup>.

Considerando que a variação das espécies de acordo com a localização geográfica deve ser levada em conta entre os fatores epidemiológicos de CVV<sup>11,18,20</sup> e que os dados epidemiológicos sobre a doença no Brasil são escassos<sup>19,24</sup>, pesquisas regionais são necessárias para a determinação do envolvimento de diferentes espécies de *Candida* na etiologia da CVV, ajudando no tratamento e manejo clínico dessa patologia<sup>1</sup>. Assim, neste estudo, os objetivos foram isolar e identificar amostras de *Candida* a partir de secreção vaginal de pacientes com diagnóstico clínico de candidíase vulvovaginal na Zona da Mata Mineira e investigar possíveis correlações entre cultura positiva, características sociodemográficas e manifestações clínicas associadas a fatores de risco e sinais e sintomas.

## Métodos

Trata-se de um estudo descritivo, observacional, transversal, realizado com amostras de conveniência. A população amostrada foi composta por 69 pacientes com diagnóstico clínico de CVV, recrutadas entre dezembro de 2009 e dezembro de 2011, em dois consultórios da rede particular e/ou conveniada e em um ambulatório de hospital da rede pública (Hospital e Maternidade Therezinha de Jesus) em Juiz de Fora, Minas Gerais, durante consulta ginecológica. Um formulário foi preenchido para cada paciente pelo profissional atendente, contendo informações como idade, raça, nível de escolaridade, estado civil, atividade sexual, presença de fatores de risco ou predisponentes para CVV e sinais e sintomas associados. Todas as pacientes que aceitaram participar do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora, parecer nº 031/2009.

Amostras de secreção vaginal foram coletadas durante o exame clínico das pacientes, com zangarões flexíveis esterilizados (Alamar Tecnocientífica Ltda., Diadema, Brasil), e imediatamente imersas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) em tubos de ensaio lacrados com rolhas de

algodão hidrofóbico. O material foi enviado no mesmo dia ao Laboratório de Micologia Ambiental e Médica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (LMAM/ICB/UFJF) para processamento experimental.

Os espécimes clínicos foram inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultura ágar Sabouraud dextrose (Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda., Duque de Caxias, Brasil), suplementado com cloranfenicol (10 mg/mL – Northeast General Pharmaceutical Factory, Shenyang, China), e incubados a 35°C, por um período de 2–7 dias. Das placas onde houve desenvolvimento de colônias leveduriformes, foram escolhidas para subcultivo no mesmo meio de cultura sem droga antibacteriana quatro colônias representativas por espécime clínico, quando possível, morfológicamente distintas. Após obtenção de culturas puras, as amostras de leveduras foram depositadas na coleção de culturas do LMAM/ICB/UFJF, criopreservadas e submetidas a procedimento de extração de DNA para identificação molecular. As amostras de referência *Candida albicans* ATCC 18804, *Candida krusei* ATCC 20298, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida parapsilosis* ATCC 20019 e *Candida glabrata* ATCC 90030 foram utilizadas como controle experimental.

O DNA genômico das leveduras foi extraído pelo método de digestão química e purificação com fenol-clorofórmio, de acordo com metodologia já estabelecida para obtenção de DNA de leveduras de alto grau de pureza, com modificações<sup>25</sup>. Assim, a partir de 2,0 mL de uma cultura de 48 horas em caldo Sabouraud (Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda., Duque de Caxias, Brasil), massa celular foi obtida após centrifugação a 12.000 x g, por 5 minutos em centrífuga refrigerada (Jouan CR3i, Thermo Electron Corporation, MA, EUA), e as células foram lavadas em igual volume com água destilada previamente esterilizada. Após nova centrifugação nas mesmas condições, a massa celular resultante foi suspensa em 0,5 mL de tampão de lise (Tris HCl pH 8,0 10 mM, EDTA 1 mM, NaCl 100 mM, Triton X100 2% v/v, SDS 1%), acrescida de pérolas de vidro e submetida a agitação em vórtex (Coleman Equipamentos para Laboratórios Comércio e Importação Ltda., Santo André, Brasil) por 2 ciclos 1 minuto. Posteriormente, foram adicionados 0,4 mL de fenol saturado com Tris (1M, pH 8), 0,4 mL de solução de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), e as amostras foram novamente agitadas em vórtex, por 10 segundos, e centrifugadas para separação de fases, a 12.000 x g, por 5 minutos. A fase aquosa foi retirada e o DNA, precipitado, após a adição de 0,05 mL de NaCl 5M, 2 volumes de etanol gelado e centrifugação a 12.000 x g, por 30 minutos, a 4°C. Os extratos foram lavados com etanol 70%, solubilizados, tratados com RNase 1 mg/mL e quantificados por espectrofotometria (Qubit 2.0, Fluorometer, Invitrogen, Life Technologies, OR, EUA).

A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%.

A identificação microbiana foi realizada por *Polymerase Chain Reaction* (PCR) em reações multiplex, utilizando-se oligoiniciadores específicos para o gênero *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. topicalis*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* e *C. parapsilosis*) e oligoiniciadores universais para leveduras clinicamente relevantes, tal como estabelecido na literatura<sup>26</sup>. Os oligoiniciadores universais foram usados para amplificação das regiões intergênicas espaçadoras das leveduras patogênicas associadas a doenças humanas, para originar os amplicons esperados na reação de PCR multiplex com os oligoiniciadores espécie-específicos. As condições de amplificação foram: desnaturação inicial, 10 minutos, 94°C e 40 ciclos de 15 segundos, 94°C; 30 segundos, 55°C; 45 segundos, 65°C, em termociclador Techne® TC-412 (Thermal Cycler, OSA, Reino Unido)<sup>26</sup>.

Os dados obtidos foram expressos como média e desvio padrão para variáveis quantitativas e como frequência absoluta e frequência relativa para as variáveis categóricas. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 13.0 para *Windows* (Chicago, IL, EUA) e utilizado o teste t de Student para comparação de médias entre amostras independentes. Para verificar associação, utilizou-se o teste exato de Fischer quando possível ou o teste do  $\chi^2$  para variáveis com mais de duas categorias. O nível de significância adotado foi de 5%, e todos os testes foram bicaudais.

## Resultados

Entre as pacientes que participaram deste estudo, com diagnóstico clínico de CVV (n=69), a cultura da secreção vaginal permitiu a recuperação de amostras de *Candida* em espécimes clínicos provenientes de 55 participantes, o que corresponde a uma frequência de 79,7% de positividade na cultura. Entre as leveduras isoladas, 3 espécies foram identificadas, sendo a mais prevalente *Candida albicans* (98,1%), isolada de 54 pacientes, seguida por *C. glabrata* (5,4%), isolada de 3 pacientes e *C. lusitaniae* (3,6%), isolada de 2 pacientes.

Dessas mulheres cuja cultura de secreção vaginal foi positiva, monoinfecção foi observada em 51 pacientes (92,7%), enquanto que infecção polimicrobiana foi observada em 4 (7,3%). Ao se considerar a etiologia das infecções monomicrobianas, *C. albicans* foi a espécie predominante, isolada a partir da cultura da secreção vaginal de 50 dessas pacientes (90,9%). Além disso, *C. glabrata* também foi identificada associada à monoinfecção em 1 paciente (1,8%). Ao se considerar a etiologia das

infecções polimicrobianas, as associações *C. albicans* e *C. glabrata* ou *C. albicans* e *C. lusitanae* foram observadas em duas pacientes.

Os dados sociodemográficos das pacientes participantes deste estudo são apresentados na Tabela 1. A idade não foi uma característica que pode ser relacionada com cultura positiva para *Candida* spp. a partir da secreção vaginal ( $p=0,6$ ), sendo o mesmo observado em relação ao estado civil ( $p=0,1$ ), à etnia ( $p=0,2$ ) e à escolaridade ( $p=0,1$ ).

**Tabela 1.** Características sociodemográficas do grupo de pacientes avaliadas

Variáveis avaliadas	Pacientes no grupo (n=69)	Frequência (%)	Correlação com a cultura fúngica (valor p)
Faixa etária média	28,2 (7,9)*	–	0,6**
Estado civil			0,1***
Solteira	30	43,5	
Casada	39	56,5	
Etnia (cor da pele)			0,2****
Branca	55	79,7	
Negra	08	11,6	
Parda	06	08,7	
Escolaridade			0,1****
Ensino Superior	40	58,0	
Ensino Médio	20	29,0	
Ensino Fundamental	09	13,0	
Vida sexual ativa			NS
Sim	67	97,1	
Não	02	02,9	

\*Resultado expresso em média (desvio-padrão); \*\*comparação de médias de idade realizada pelo teste *t* de Student para amostras independentes; \*\*\*associação calculada pelo teste exato de Fischer; \*\*\*\*associação calculada pelo teste do  $\chi^2$ ; NS: não significante

**Tabela 2.** Características clínicas associadas a fatores de risco para candidíase vulvovaginal no grupo de pacientes avaliadas

Variáveis avaliadas	Pacientes no grupo (n=69)	Frequência (%)	Associação com a cultura fúngica (valor p)*
Em gestação	24	34,8	0,5
Diagnóstico de diabetes	05	7,2	0,2
Diagnóstico de AIDS	1	1,4	NS
Anticoncepcional oral	25	36,2	NS
Uso de dispositivo intrauterino	0	–	–
Em corticoterapia	02	2,9	0,03
Uso de quimioterápico**	1	1,4	0,2
Uso de droga antibacteriana			0,3
Sim	9	13,0	
Não informado***	5	7,2	
Uso de droga antifúngica			0,02
Sim	4	5,8	
Não informado***	09	13,0	
Uso de droga anti-tricomonas			NS
Sim	1	1,4	
Não informado***	11	15,9	

\*Associação calculada pelo teste exato de Fisher; \*\*quimioterapia antineoplásica; \*\*\*categoria excluída para calcular a associação; NS: não significante.

Ao serem questionadas sobre a atividade sexual nos últimos 30 dias antes da consulta ginecológica que resultou no diagnóstico clínico de CVV e coleta de espécime clínico para cultura microbiológica, apenas 2 participantes (2,9%) relataram não ter vida sexual ativa, e as 67 pacientes sexualmente ativas (97,1%) informaram ter somente um parceiro sexual. Não foi observada associação entre essas variáveis e o isolamento de leveduras ( $p=1,0$ ).

Embora não tenha sido estabelecida correlação entre cultura positiva para *Candida* e as variáveis clínicas como diabetes ( $p=0,266$ ), gravidez ( $p=0,537$ ), soropositividade para AIDS ( $p=1,000$ ), quimioterapia ( $p=0,203$ ), uso de anticoncepcionais orais ( $p=1,000$ ), uso de drogas antibacterianas ( $p=0,372$ ) e uso de droga anti-tricomonas ( $p=1,000$ ), observou-se uma associação entre cultura negativa e uso de corticoides ( $p=0,039$ ) e também com o uso de drogas antifúngicas ( $p=0,023$ ) (Tabela 2).

O diagnóstico clínico da CVV foi realizado no serviço médico, considerando-se os sinais observados no exame ginecológico e os sintomas relatados pelas pacientes (Tabela 3). O prurido vulvar foi o sintoma mais frequentemente citado pelas pacientes avaliadas (73,9%), seguido por relato de ardência vulvar (63,8%). A maioria das participantes do estudo apresentou fluxo vaginal (97,1%) e hiperemia vulvar (63,8%). Não foram observadas, entretanto, correlações significativas entre a cultura fúngica e os sintomas relatados, sejam prurido ( $p=0,496$ ) ou ardência vulvar ( $p=0,350$ ), ou os sinais clínicos avaliados: fluxo vaginal ( $p=1,000$ ) ou hiperemia vulvar ( $p=0,350$ ).

**Tabela 3.** Manifestações clínicas relacionadas ao diagnóstico de candidíase vulvovaginal no grupo de pacientes avaliadas

Sinais e sintomas	Pacientes no grupo (n=69)	Frequência (%)	Associação com a cultura fúngica (valor p)
Presença de prurido	51	73,9	0,4*
Relato de ardência vulvar	44	63,8	0,3*
Hiperemia vulvar	44	63,8	0,3*
Ocorrência de fluxo vaginal	67	97,1	NS
Cor do fluxo vaginal presente			0,4**
Branco	59	85,5	
Esverdeado	2	2,9	
Amarelado	2	2,9	
Branco-amarelado	1	1,4	
Branco-esverdeado	1	1,4	
Amarelo-esverdeado	1	1,4	
Cor não relatada	1	1,4	
Aspecto do fluxo vaginal presente			0,1**
Grumoso	58	84,1	
Fluido	8	11,6	
Aspecto não relatado	1	1,4	

\*Associação calculada pelo teste exato de Fisher; \*\*associação calculada pelo teste do  $\chi^2$ .

A análise do fluxo vaginal revelou que a secreção tinha coloração branca em 88% dos casos, enquanto que secreções de coloração esverdeada ou amarelada foram observadas em frequências de 2,9%. Além disso, secreções de coloração branco-amarelada, branco-esverdeada ou amarelado-esverdeada também foram observadas (1,4%). Para uma paciente, não foi relatada a coloração do fluxo vaginal durante o exame clínico. Considerando-se o aspecto do fluxo vaginal, essa secreção foi descrita como grumosa em 84,1% dos casos ou fluida em 11,6%. Não foi relatado o aspecto do fluxo vaginal para uma paciente. Não foram observadas correlações significativas entre cultura positiva de *Candida* e coloração ( $p=0,407$ ) ou aspecto ( $p=0,187$ ) do fluxo vaginal.

Aproximadamente metade das pacientes avaliadas (47,8%) apresentou os 4 sinais e sintomas clínicos avaliados (hiperemia, fluxo vaginal, prurido e ardência), enquanto que apenas fluxo vaginal foi observado em 17,4%. Observou-se ainda que 20,3 e 14,5% das pacientes apresentavam, respectivamente, 3 e 2 das manifestações clínicas avaliadas, simultaneamente.

## Discussão

A queixa de corrimento vaginal é a principal razão que leva mulheres do mundo inteiro a procurar serviços de saúde, sendo as vaginites infecciosas as causas mais comuns<sup>2,4</sup>. Embora na prática médica o diagnóstico das vulvovaginites seja essencialmente clínico, ele é considerado inadequado, e sugere-se que deve ser confirmado por exames microbiológicos clássicos baseados em cultura ou utilizando-se técnicas moleculares<sup>2,4,5</sup>. Além disso, considerando-se a emergente resistência antimicrobiana, é sugerido o isolamento e identificação da levedura, evitando-se terapias empíricas desnecessárias às pacientes<sup>7,20,27</sup>.

Neste estudo, a alta frequência de positividade em cultura de leveduras associada às pacientes com diagnóstico clínico de CVV (79,7%) é semelhante à apresentada por outros autores e reforça a necessidade do diagnóstico laboratorial associado ao diagnóstico clínico<sup>2,3,7</sup>. Entretanto, percebe-se que o rigor na observação de sinais e sintomas durante o diagnóstico clínico, associado às boas práticas laboratoriais e carga microbiana presente na secreção vaginal, possui grande impacto na correlação entre diagnóstico de CVV e isolamento de leveduras. Vários autores relatam uma baixa frequência de isolamento de fungos (>50%) em secreção vaginal de pacientes com diagnóstico clínico de CVV<sup>4,6,15,20,21,28</sup>. De acordo com a literatura, é altamente provável que a maioria das mulheres com queixas vaginais comuns tenha um diagnóstico impreciso, sendo que esse problema permanece como um desafio<sup>2,7</sup>.

Este estudo, confirmando os dados da literatura nacional e internacional, indica a predominância da espécie

*C. albicans* como a mais frequentemente associada à CVV<sup>5,6,8,9,12,15,18,20-22,29</sup> e *C. glabrata* como a segunda espécie mais prevalente<sup>3,5-9,12,17,21,23,26,27,29</sup>. Tem sido registrada a participação de *C. lusitaniae* em infecções tanto mono quanto polimicrobianas, tal como observado neste estudo, considerando-se a etiologia polimicrobiana da CVV<sup>9,10,15</sup>. Assim, mesmo que essa espécie só tenha sido encontrada em associação com *C. albicans*, há de se registrar a sua emergência na etiopatogenia da doença, suscitando estudos prospectivos para se esclarecer a real participação de *C. lusitaniae* no desenvolvimento da CVV e terapia empírica mais apropriada.

De acordo com a literatura, a taxa de ocorrência de infecção mista em CVV é bastante variada (4 a >10%)<sup>12,16</sup>. A detecção de infecção mista em CVV é possibilitada pela utilização de meios de cultura cromogênicos, ou facilitada pelo isolamento de mais de uma colônia microbiana amostral em cada placa de cultivo, ao se usar meios de cultura não cromogênicos tradicionais, como o ágar Sabouraud dextrose suplementado com cloranfenicol<sup>27</sup>. Na maioria dos casos de infecção mista, são relatadas as associações: *C. albicans* e *C. glabrata*; *C. albicans* e *C. krusei*; *C. albicans* e *C. tropicalis*; *C. albicans* e *C. parapsilosis*; *C. albicans* e *C. tropicalis*; *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*; *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei*; *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*; além da associação entre *C. glabrata* e *Saccharomyces cerevisiae*<sup>10,16,27</sup>. Neste estudo, foi observada, ainda, de maneira incomum, a associação de *C. albicans* e *C. lusitaniae* na secreção vaginal de pacientes com diagnóstico clínico de CVV.

A CVV é relatada principalmente em mulheres que estão em idade reprodutiva, o que também foi observado no presente trabalho. A literatura consultada é unânime em apontar as pacientes com CVV pertencentes à faixa etária de 20 a 40 anos como as mais acometidas pela doença<sup>4,6,8,24</sup>. Associa-se a esse fato a atividade ovariana máxima com produção de estrogênio, o que favorece o crescimento de *Candida* e sua aderência às células epiteliais vaginais<sup>7</sup>. A transmissão sexual de CVV é mencionada, apesar de a doença não ser considerada uma doença sexualmente transmissível (DST). Entretanto, a literatura sugere a predominância entre as mulheres que têm vida sexual ativa, tal como observado neste estudo<sup>6,16,17,28,30,31</sup>.

Poucos são os relatos envolvendo CVV em que se avalia o estado civil das pacientes. Os achados do presente estudo, como também os relatados por outros autores, indicam um predomínio de CVV entre as mulheres casadas<sup>29,32</sup>. Apesar disso, existem relatos que sugerem maior frequência de acometimento de CVV entre as mulheres solteiras<sup>17</sup>, ou sem relação com o estado civil<sup>2</sup>. Considerando-se a diversidade étnica e social dos grupos de pacientes amostrados nos estudos de CVV, a relação entre a prevalência da doença ou suscetibilidade à sua ocorrência e

a etnia (cor da pele) das pacientes é controversa, não sendo estabelecida, como neste estudo, nenhuma correlação<sup>2,17,32</sup>. O mesmo fenômeno é observado em relação à escolaridade das pacientes com diagnóstico clínico de CVV<sup>2,21,31-33</sup>. Apesar disso, neste estudo, observou-se um predomínio da doença entre as participantes que foram consideradas de cor branca e grau universitário.

Várias investigações foram realizadas para se avaliar os potenciais fatores de risco para CVV, mas os dados epidemiológicos são conflitantes e seu papel na patogênese da doença ainda é controverso<sup>6</sup>. Os fatores predisponentes mais comuns associados com a candidíase são gravidez, *diabetes mellitus*, uso de contraceptivos, terapia antimicrobiana, atividade sexual e higiene sexual<sup>7</sup>. Qualquer alteração dos níveis de glicose, especialmente em situações de hiperglicemia, pode desencadear CVV, incluindo, assim, diabetes entre os fatores de risco<sup>1,7,28</sup>. Assim, diferentes taxas de prevalência de CVV em mulheres com diabetes são registradas<sup>6,7,12,16,22,28,31</sup>.

Durante a gravidez, o nível elevado de estrogênio contribui para um aumento no conteúdo de glicogênio vaginal, importante fonte de carbono para o desenvolvimento do fungo<sup>7</sup>. Neste estudo, a frequência de pacientes grávidas entre as diagnosticadas com CVV foi semelhante à observada por outros autores<sup>18</sup>, porém sugere-se que a doença possa ocorrer mais comumente entre as mulheres grávidas do que nas não grávidas<sup>7,21</sup>. Neste estudo, não foi observada correlação entre cultura de leveduras positiva e gravidez como já relatado<sup>20</sup>, embora essa correlação tenha sido estabelecida anteriormente<sup>3</sup>.

O efeito dos contraceptivos orais na predisposição à CVV é mal compreendido, e os resultados das pesquisas são conflitantes. Acredita-se que o elevado teor de estrogênio nos contraceptivos orais pode ser um dos fatores de predisposição, como verificado durante a gravidez<sup>7</sup>. Neste estudo, 36,2% das pacientes com CVV usavam anticoncepcionais orais, e não foi observada correlação entre essa variável e a cultura de *Candida*, como observado por outros autores<sup>20,30</sup>. Entretanto, há registros de correlação positiva entre o uso de anticoncepcionais hormonais com vulvovaginite clínica, e alguns levantamentos mostram porcentagem maior de mulheres com CVV que usam anticoncepcionais orais<sup>17-19,29</sup>. A incidência de CVV não parece estar associada ao uso de DIU<sup>18,20</sup>, embora seja aceito que o aumento do risco de infecção esteja relacionado à elevada capacidade da levedura para a produção de um biofilme no DIU, que poderia atuar como um reservatório de *Candida*<sup>6</sup>.

A CVV pode estar associada a situações de debilidade do hospedeiro, como no caso das pacientes em uso de corticosteroides e agentes citotóxicos, ou a doenças sistêmicas (AIDS, por exemplo) ou hematológicas que promovem a supressão funcional das células T, diminuindo

a capacidade de resposta imunológica e favorecendo a infecção<sup>17</sup>. No entanto, neste estudo, tal como relatado por outros autores, foi observada baixa frequência de CVV em pacientes que fizeram uso de corticoides, quimioterápicos antineoplásicos ou soropositivas para HIV<sup>28,30</sup>.

O uso de antibióticos é apontado como responsável por aumentar a taxa de colonização vaginal por *Candida* de 10 a 30%, pois essas drogas agem diminuindo a população bacteriana que geralmente compete com as leveduras da microbiota vaginal<sup>7,17</sup>. Vários autores evidenciam a suscetibilidade à CVV em pacientes submetidas à antibioticoterapia e frequência de diagnóstico entre essas pacientes em taxas semelhantes às encontradas neste trabalho<sup>7,12,16,21,22</sup>. Embora não existam estudos com abordagem semelhante para comparação, os dados obtidos mostram correlação entre uso de drogas antifúngicas e cultura negativa de *Candida*. Como esperado, é plausível a sugestão da interferência da droga na recuperação de amostras de *Candida* em cultura, principalmente se o uso da medicação foi em data próxima à obtenção do espécime clínico.

A sintomatologia típica da CVV inclui o prurido e o corrimento vaginal em grumos, semelhante à nata de leite. Outros sintomas também são frequentes, como o desconforto vulvar, a dispareunia e a disúria, porém nenhum deles é específico para CVV<sup>17,18</sup>. O prurido, considerado o principal sintoma, exacerba-se mais à noite devido ao calor local, mas, apesar de ser muito frequente, também pode estar presente em outras patologias ginecológicas<sup>17</sup>. Esse foi o principal sintoma relatado neste estudo, como observado por outros autores<sup>6,15,21,27,28,30</sup>. A ardência vulvar, outro sintoma comumente relatado na CVV, foi o segundo sintoma mais observado neste estudo, em concordância com dados da literatura<sup>6,19,30</sup>. Áreas hiperemiadas, principalmente na vulva e vagina, como observadas neste estudo, têm sido comumente relatadas como comuns nas pacientes com CVV, às vezes como sintoma positivamente associado ao diagnóstico<sup>6,18,19,29,30</sup>, tal como o corrimento vaginal, em algumas situações relatado como única queixa feita pelas pacientes<sup>6,15,17-19,27-30</sup>.

Apesar da literatura escassa que aborde aspecto e coloração do fluxo vaginal e sua correlação com a CVV, os dados obtidos neste estudo mostram-se semelhantes ao descrito por outros autores<sup>17,19,28</sup>, sem relações fisiopatológicas estabelecidas. Além disso, em oposição à observação majoritária de ocorrência e relato de mais de um sinal e sintoma clínico entre as pacientes diagnosticadas com CVV, dados da literatura apontam prurido ou ardência como manifestação clínica única predominante entre as pacientes com diagnóstico de CVV<sup>22</sup>.

Embora os resultados obtidos neste estudo corroborem a prevalência de *C. albicans* na etiologia de CVV, apontam a emergência da sua associação com *C. lusitanae*, dado ainda não relatado na região amostrada. Essa observação

suscita a necessidade do diagnóstico microbiológico para estratégias antimicrobianas mais eficazes. Além disso, à medida que aproximadamente 20% dos espécimes clínicos provenientes de pacientes com diagnóstico clínico de CVV tiveram cultura negativa, questiona-se o tratamento antifúngico empírico como conduta terapêutica na rotina ginecológica. O não estabelecimento de correlações significativas entre a positividade da cultura fúngica e as características clínicas associadas a fatores de risco e sinais e sintomas entre as pacientes com diagnóstico clínico de CVV permite a reafirmação de que não existem manifestações patognômicas da doença e que os procedimentos

laboratoriais devem ser realizados para um diagnóstico etiológico correto de vaginite.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Federal de Juiz de Fora – PRORH e PROPESQ – pelo apoio financeiro. À Dra. Aline Siqueira Ferreira pela disponibilidade e ajuda na análise estatística dos resultados.

## Referências

- Rodrigues MT, Simões LZ, Diniz CG. Clinical, microbiological and therapeutic aspects of vulvovaginal candidiasis and recurrent vulvovaginal candidiasis: importance of regional surveys. *HU Rev.* 2009;35(3):175-81.
- Lowe NK, Neal JL, Ryan-Wenger NA. Accuracy of the clinical diagnosis of vaginitis compared to a DNA probe laboratory standard. *Obstet Gynecol.* 2009;113(1):89-95.
- Linhares LM, Witkin SS, Miranda SD, Fonseca AM, Pinotti JA, Ledger WJ. Differentiation between women with vulvovaginal symptoms who are positive or negative for *Candida* species by culture. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2001;9(4):221-5.
- Esim Buyukbayrak E, Kars B, Karsidag AY, Karadeniz BI, Kaymaz O, Gencer S, et al. Diagnosis of vulvovaginitis: comparison of clinical and microbiological diagnosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;282(5):515-19.
- Alves IA, Camargo FP, Goulart LS. Identificação por PCR e sensibilidade a antifúngicos de isolados clínicos vaginais de *Candida* sp. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(5):575-9.
- Amouri I, Sellami H, Borji N, Abbes S, Sellami A, Cheikhrouhou F, et al. Epidemiological survey of vulvovaginal candidosis in Sfax, Tunisia. *Mycoses.* 2011;54(5):e499-505.
- Bankar SM, Powar RM, Patil SA, Kalthur SG. Prevalence of non-albican *Candida* infection in Maharashtrian women with leucorrhea. *Ann Trop Med Public Health.* 2012;5(2):119-23.
- Mahmoudi Rad M, Zafarghandi AS, Amel Zabihi M, Tavallaee M, Mirdamadi Y. Identification of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012;2012:872169.
- Chong PP, Lee YL, Tan BC, Ng KP. Genetic relatedness of *Candida* strains isolated from women with vaginal candidiasis in Malaysia. *J Med Microbiol.* 2003;52(Pt 8):657-66.
- Rivero M, Centeno S, Díaz J. Frecuencia de espécies de *Candida* aisladas en pacientes embarazadas con vulvovaginitis. *Rev Soc Venez Microbiol.* 2003;23(2):148-52.
- Ferrazza MSHS, Maluf MLF, Consolaro MEL, Shinobu CS, Svidzinski TIE, Batista MR. [Characterization of yeasts isolated from the vagina and their association with vulvovaginal candidiasis in two cities of the South of Brazil]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(2):58-63. Portuguese.
- Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol.* 2005;43(5):2155-62.
- García-Heredia M, García SD, Copolillo EF, Cora Eliseth M, Barata AD, Vay CA, et al. [Prevalence of vaginal candidiasis in pregnant women. Identification of yeasts and susceptibility to antifungal agents]. *Rev Argent Microbiol.* 2006;38(1):9-12. Portuguese.
- Ozcan SK, Budak F, Yucesoy G, Susever S, Willke A. Prevalence, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in Turkish women. *APMIS.* 2006;114(2):139-45.
- Esmailzadeh S, Omran SM, Rahmani Z. Frequency and etiology of vulvovaginal candidiasis in women referred to a gynecological center in Babol, Iran. *Int J Fertil Steril.* 2009;3(2):74-7.
- Mahmoudi Rad M, Zafarghandi S, Abbasabadi B, Tavallaee M. The epidemiology of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis in an Iranian patient population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;155(2):199-203.
- Bastos AMC, Bravo RS, Goulart Filho RA, Isalan TB, Barreto NA. Perfil das mulheres com processo inflamatório por *Candida* em resultados de colpocitologia oncológica numa clínica de DST. *DST J Bras Doenças Sex Transm.* 2003;15(2):26-38.
- Holanda AAR, Fernandes ACS, Bezerra CM, Ferreira MAF, Holanda MRR, Holanda JCP, et al. [Vulvovaginal candidiasis: symptomatology, risk factors and concomitant anal colonization.] *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(1):3-9. Portuguese.
- Rosa MI, Rumel D. [Risk factors for vulvovaginal candidiasis: an exploratory study]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2004;26(1):65-70. Portuguese.
- Andrioli JL, Oliveira GSA, Barreto CS, Sousa ZL, Oliveira MCH, Cazorla IM, et al. [Frequency of yeasts in vaginal fluid of women with and without clinical suspicion of vulvovaginal candidiasis.] *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009;31(6):300-4. Portuguese.
- Ahmad A, Khan AU. Prevalence of *Candida* species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in Aligarh, India. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;144(1):68-71.
- Gross NT, Arias ML, Moraga M, Baddasarow Y, Jarstrand, C. Species distribution and susceptibility to azoles of vaginal yeasts isolated prostitutes. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2007;2007:82412.
- Ribeiro MA, Dietze R, Paula CR, Da Matta DA, Colombo AL. Susceptibility profile of vaginal yeast isolates from Brazil. *Mycopathologia.* 2001;151(1):5-10.
- Pereira DC, Backes LTH, Calil LN, Fuentefria AM. A six-year epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in cytopathology reports in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Patol Trop.* 2012;41(2):163-8.

25. Furlaneto-Maia L, Specian AFL, Thörn DSW, Oliveira MT, Furlaneto MC. Estudo da incidência de amostras clínicas do gênero *Candida* isoladas de diversos sítios anatômicos. *Acta Sci Health Sci*. 2007;29(1):33-7.
26. Carvalho A, Costa-De-Oliveira S, Martins ML, Pina-Vaz C, Rodrigues AG, Ludovico P, et al. Multiplex PCR identification of eight clinically relevant *Candida* species. *Med Mycol*. 2007;45(7):619-27.
27. Boatto HF, Moraes MS, Machado AP, Girão MJBC, Fischman O. [Relationship of laboratory results with clinical signs and symptoms of patients with vulvovaginal candidiasis and the significance of the sexual partners for the maintenance of the infection]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007;29(2):80-4. Portuguese.
28. Zimmermann JB, Paiva AO, Costa ACSS, Sousa AMGV, Chagas AR, Lima AAC. Validade do diagnóstico clínico de candidíase vulvovaginal. *HU Rev*. 2009;35(1):11-8.
29. Corrêa PR, David PRS, Peres NP, Cunha KC, Almeida MTG. [Phenotypic characterization of yeasts isolated from the vaginal mucosa of adult women]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2009;31(4):177-81. Portuguese.
30. Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, Penna C, Guaschino S, Beltrame A, et al. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110(1):66-72.
31. Malazy OT, Shariat M, Heshmat R, Majlesi F, Alimohammadian M, Tabari NK, et al. Vulvovaginal candidiasis and its related factors in diabetic women. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2007;46(4):399-404.
32. Reed BD, Zazove P, Pierson CL, Gorenflo DW, Horrocks J. *Candida* transmission and sexual behaviors as risks for a repeat episode of *Candida* vulvovaginitis. *J Womens Health (Larchmt)*. 2003;12(10):979-89.
33. Fang X, Zhou Y, Yang Y, Diao Y, Li H. Prevalence and risk factors of trichomoniasis, bacterial vaginosis, and candidiasis for married women of child-bearing age in rural Shandong. *Jpn J Infect Dis*. 2007;60(5):257-61.