

**INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO SUPERIOR E PESQUISA
CENTRO DE CAPACITAÇÃO EDUCACIONAL**

MARIA APARECIDA FELICIANO DE SOUZA

PATOGENIA E DIAGNÓSTICO DA CANDIDÍASE VAGINAL

**RECIFE
2017**

MARIA APARECIDA FELICIANO DE SOUZA

PATOGENIA E DIAGNÓSTICO DA CANDIDÍASE VAGINAL

Monografia apresentada ao Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Santiago Dimech

RECIFE
2017

MARIA APARECIDA FELICIANO DE SOUZA

PATOGENIA E DIAGNÓSTICO DA CANDIDÍASE VAGINAL

Monografia apresentada ao Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Recife, de de 2017

EXAMINADOR

Nome: _____

Titulação: _____

PARECER FINAL:

Aos seres a quem eu amo: Orlando Felipe de Souza, meu esposo, pelo apoio incondicional, aos meus filhos Tiago Felipe de Souza e Orlando Felipe de Souza Júnior, por compreender minha ausência física em função das minhas atividades acadêmicas e minha mãe Bercholina Bandeira da Cruz, pela compreensão de todas as vezes que me ausentei em momentos que ela precisava de mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, que me orientou, me guiou, me deu força, fé e coragem para que em chegasse com sucesso ao final do meu curso. Também, a meu filho Tiago Felipe de Souza pela ajuda financeira que foi fundamental para a realização do mesmo e a todos que direta ou indiretamente contribuíram.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e
aprende o que ensina”.

(Cora Coralina)

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é a infecção da mucosa vaginal causada por fungos do gênero *Candida*, colonizada do trato gastrointestinal, cavidade oral, trato respiratório, pele e mucosas. Em condições especiais, pode tornar-se patogênica. É uma das causas mais comuns de vaginite, acometendo cerca de 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida, sendo que 5% desenvolvem a forma recorrente, definida por pelo menos quatro episódios de vaginite por *Candida sp* no intervalo de um ano. A candidíase caracteriza-se por leucorreia, prurido intenso, hiperemia vulvar, dissúria e dispareunia. A ruptura do equilíbrio entre as leveduras do gênero *Candida* e a microbiota da qual faz parte propicia, o estabelecimento da candidíase. Vários fatores predisponentes estão relacionados: gravidez, diabetes mellitus, uso de anticoncepcionais hormonais, terapia de reposição hormonal, antibióticos e corticoides, doenças imunossupressoras, hábitos higiênicos e outros. A avaliação da CVV requer a critérios clínicos associados a achados laboratoriais, sendo este último essencial para um diagnóstico preciso e um resultado terapêutico melhorado.

Palavras-chave: Candidíase. Vaginite. Infecção.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (CVV) is the infection of the vaginal mucosa caused by fungi of the genus *Candida*, colonized from the gastrointestinal tract, oral cavity, respiratory tract, skin and mucous membranes. Under special conditions, it may become pathogenic. It is one of the most common causes of vaginitis, affecting about 75% of women at least once in life, with 5% developing the recurrent form defined by at least four episodes of *Candida* sp vaginitis within one year. Candidiasis is characterized by leukorrhea, severe pruritus, vulvar hyperemia, dysuria and dyspareunia. The rupture of the balance between the yeasts of the genus *Candida* and the microbiota of which it is part favors the establishment of candidiasis. Several predisposing factors are related to pregnancy, diabetes mellitus, use of hormonal contraceptives, hormone replacement therapy, antibiotics and steroids, immunosuppressive diseases, hygienic habits and others. The evaluation of CVV requires clinical criteria associated with laboratory findings, the latter being essential for an accurate diagnosis and an improved therapeutic result.

Keywords: Candidiasis. Vaginitis. Infection.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Levedura, hifa e pseudohifa de <i>Candida albicans</i> | 13 |
| Figura 2 - <i>Candida albicans</i> na coloração de Gram e pseudohifas na coloração PAS..... | 15 |
| Figura 3 - Invasão e infecção por <i>Candida</i> | 17 |
| Figura 4 - <i>Candida albicans</i> | 30 |
| Figura 5 - <i>Candida spp.</i> na coloração de Papanicolau..... | 31 |
| Figura 6 - <i>CHROMagar Candida</i> no isolamento de diferentes espécies de <i>Candida</i> | 32 |
| Figura 7 - Tubos germinativos de <i>Candida albicans</i> em soro de coelho a 37°C..... | 33 |
| Figura 8 - Teste de fermentação de carboidratos positivo para <i>Candida glabrata</i> | 35 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO | 10 |
| 1 CANDIDÍASE VAGINAL | 11 |
| 2 MICROBIOLOGIA | 13 |
| 3 PATOGENIA | 16 |
| 3.1 IMUNOLOGIA..... | 20 |
| 4 EPIDEMIOLOGIA | 24 |
| 5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO | 27 |
| 5.1 CRITÉRIOS PARA DIAGNÓSTICO CLÍNICO | 28 |
| 6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL | 28 |
| 6.1 EXAMES MICROSCÓPICOS | 29 |
| 6.2 CULTURA..... | 31 |
| 6.3 PROVAS FISIOLÓGICAS: TESTE DO TUBO GERMINATIVO E CULTIVO EM LÂMINA .. | 33 |
| 6.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA..... | 34 |
| 6.5 MÉTODOS MOLECULARES | 35 |
| 7 CONCLUSÃO | 37 |
| REFERÊNCIAS | 38 |

INTRODUÇÃO

A Candidíase vulvovaginal é uma entidade ginecológica frequente causada por espécies de *Candida*, fungo comensal que habita a mucosa vaginal e digestiva, podendo, no entanto, desencadear doenças em indivíduos normais e pacientes imunodeprimidos. Dessa forma, a Candidíase pode ser considerada uma infecção oportunista. (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012)

Geralmente a vulvovaginite por *Candida* ocorre quando há um desequilíbrio entre os fatores de proteção vaginal e a virulência do fungo. Assim, a infecção é consequência de uma alteração na relação de comensalismo que esse fungo tem com o hospedeiro. O desencadeamento de candidíase vulvovaginal é explicado pela própria fisiologia da mucosa, estando na dependência da produção de estrogênio. Quando ocorre qualquer alteração mínima nessa função hormonal, o indivíduo pode apresentar um quadro infeccioso por *Candida*. Embora não haja consenso, muitos fatores de risco potenciais para a Candidíase vulvovaginal têm sido descritos, incluindo o recente uso de antibióticos, contraceptivos orais, presença de diabetes mellitus, gravidez, uso de roupas justas, absorventes e deficiências imunológicas específicas. (SMITH, TUREK, 2015, DABAS, 2013)

Na maioria dos casos, os aspectos clínicos da candidíase vulvovaginal e um adequado exame ginecológico permitem o diagnóstico correto. Contudo, deve-se ressaltar que, à especificidade da sintomatologia, os exames laboratoriais são indispensáveis, tendo em vista as causas irritativas que cursam paralelamente, com prurido e corrimento vaginal importantes. Exames microscópicos como citologia pelo método Papanicolau são métodos indispensáveis para o correto diagnóstico. (RODRIGUES et al., 2013)

As infecções vaginais constituem um dos mais frequentes problemas do ambulatório de ginecologia e, portanto, reconhecer os agentes envolvidos é de grande interesse na seleção da conduta adequada. Historicamente, as infecções do trato genital inferior (TGI) representam enfermidades de caráter relevantes nos serviços de atendimento ginecológico, não só pela elevada frequência e multiplicidade de agentes, como também pelo seu fluxo negativo no aspecto social, emocional e reprodutivo da mulher. (SÁ et al., 2014)

Este trabalho tem como objetivo, portanto, esclarecer às mulheres sobre a candidíase e suas diferentes formas de manifestação, processo patogênico e imunológico, bem como orientar aos profissionais de saúde e pacientes em geral sobre o diagnóstico (clínico e laboratorial) e tratamento dessa infecção.

1 CANDIDÍASE VAGINAL

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção da vulva e vagina causada por *Candida*, fungo comensal que vive normalmente nos mais diversos nichos corporais, sendo conhecidas cerca de 200 espécies, que podem tornar-se patogênicas sob determinadas condições que alterem a microbiota (PEIXOTO et al., 2014).

As infecções vaginais constituem um dos mais frequentes problemas do ambulatório de ginecologia e, portanto, reconhecer os agentes envolvidos é de grande interesse na seleção da conduta adequada. Dentre as vulvovaginites, a CVV é a segunda mais frequente, atrás somente da vaginose bacteriana (VB). A CVV acomete 75% das mulheres em alguma fase da vida e 40% poderão ter candidíase vulvovaginal novamente. (DALL'ALBA, JASKULSKI, 2014; SÁ et al., 2014)

Estima-se que dez milhões de consultas por ano sejam decorrentes de sintomas relacionados às vulvovaginites como corrimento vaginal, prurido vulvar e disúria. Além do desconforto da paciente, outras complicações inerentes à infecção possuem importância especial: doença inflamatória pélvica; esterilidade e infertilidade; complicações no pós-operatório e aumento da morbidade perinatal. (ROSSI et al., 2017)

A *Candida* é um fungo oportunista encontrado normalmente na cavidade oral, tratos respiratórios e gastrintestinais e pele. Em situações clínicas, caracterizadas por diminuição da resistência do hospedeiro, a *Candida sp* pode tornar-se patogênica. O aspecto do agravo é amplo, podendo acometer exclusivamente a pele e mucosa, mas também atingir os órgãos internos, causando lesões superficiais ou profundas, agudas ou crônicas. Casos de candidíase sistêmica são potencialmente letais, principalmente em indivíduos debilitados, podendo levar a endocardite e comprometimento do sistema nervoso, como consequência da disseminação hematogênica do fungo, ou seja, candidemia. (SIQUEIRA et al., 2014)

A CVV é causada por um único agente, porém o mecanismo de transformação da colonização em infecção é multifatorial. Observa-se que a relação parasita-hospedeiro presente nesta infecção é dependente não só de fatores do hospedeiro, mas também dos diversos fatores de virulência do fungo. Dentre estes, destaca-se as propriedades de adesão aos tecidos e superfícies e de formação de tubos germinativos e a produção de proteases extracelulares. Assim, a *Candida sp* pode causar doença no homem por invasão tecidual, por indução de estados de hipersensibilidade ou por produção de toxinas. Há várias espécies de *Candida* com capacidade de colonização e infecção, sendo a *Candida albicans* a mais comum, ocorrendo em 80 a 90% dos casos. As espécies não-*albicans* como a *Candida*

glabrata, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* são responsáveis pelos casos restantes de infecção fúngica vulvovaginal (SIMÕES, FONSECA, FIGUEIRAL, 2013; FERREIRA, 2015)

Alguns fatores de risco potenciais para a CVV têm sido descritos na literatura, incluindo o uso de antibióticos sistêmicos ou tópicos, contraceptivos orais de altas doses, terapias de reposição hormonal, presença de diabetes mellitus, gravidez, uso de roupas justas e/ou sintéticas, absorventes, além de deficiências imunológicas específicas. Especula-se também que hábitos higiênicos inadequados podem ser possíveis fatores da contaminação vaginal. (FREITAS, PIRES, 2016; PEIXOTO, 2014)

Embora as causas infecciosas das vulvovaginites 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. Recomenda-se que o diagnóstico vá além dos dados clínicos e que exames microbiológicos devam ser incorporados, quando possível, como complementares ao diagnóstico das vulvovaginites, através da identificação microscópica do fungo em raspados das lesões e isolamento em cultura. (RODRIGUES et al., 2013)

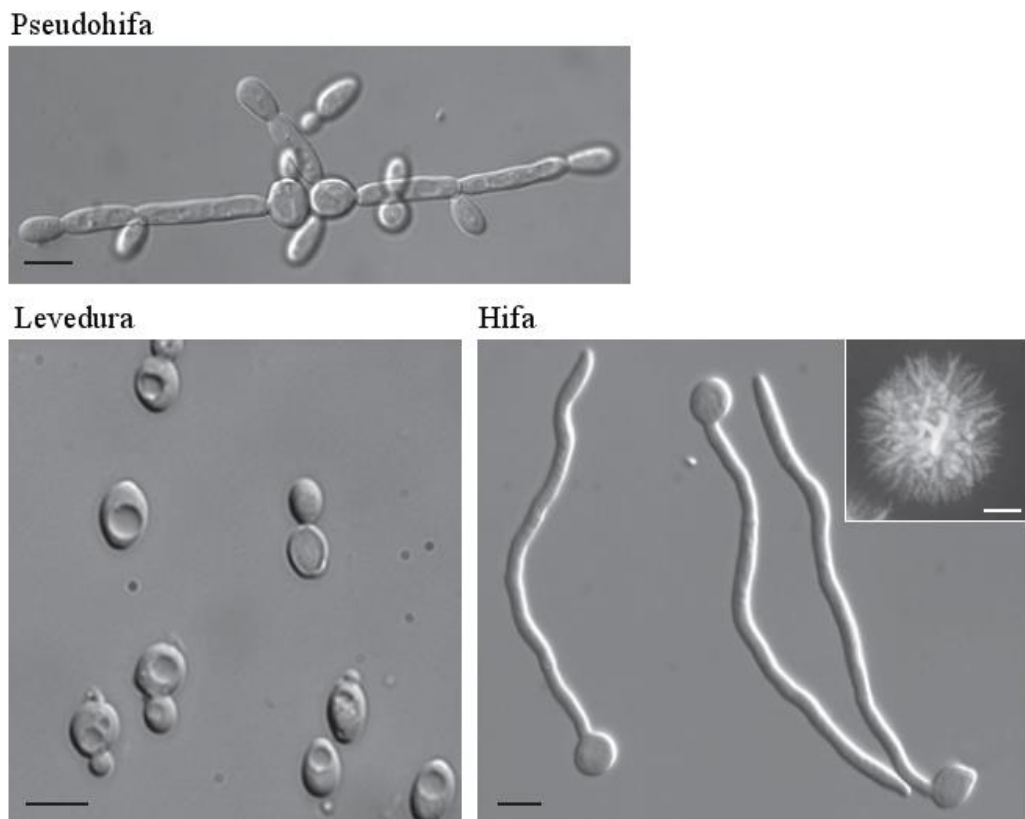
Com relação ao tratamento da CVV, atualmente estão disponíveis diversas alternativas, constituindo terapêuticas diferentes em casos agudos e de recorrência. No geral deve-se levar em consideração a urgência dos sintomas da paciente e observar intolerâncias à terapia, para se obter maiores chances de sucesso em cada caso específico. O tratamento normalmente consiste em aplicação tópica de drogas antifúngicas de venda livre, como clotrimazol e miconazol. A maioria das mulheres entretanto prefere a utilização de medicamentos orais, pelo conforto da administração e menores efeitos colaterais, como os de dose única, como o fluconazol ou outro antifúngico azólico. (VASCONCELOS et al., 2016; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012)

As infecções fúngicas em instituições de assistência à saúde passaram a ter uma grande importância nos últimos anos, devido ao seu aumento progressivo e pelas altas taxas de morbidade e mortalidade. Embora novas espécies fúngicas sejam identificadas, dentre as infecções oportunistas mais prevalentes está a candidíase. Estudos que abordem sobre aspectos relevantes desta infecção, são essenciais para o conhecimento da população em geral bem como para os profissionais de saúde, para melhoria da conduta aos pacientes acometidos. (NAKAMURA, CALDEIRA, AVILA, 2013)

2 MICROBIOLOGIA

A *Candida* pertence à classe Ascomycetes e à família Saccharomycetaceae, é um fungo diploide assexual e dimórfico, ou seja, dependendo das condições ambientais pode existir como levedura unicelular em forma oval com brotamento (blastosporo e clamidósporo), bem como em diferentes formas filamentosas denominadas hifas e pseudohifas (Figura 1). Atualmente, mais de 40 das 200 espécies conhecidas de *Candida* tem sido associadas à infecções humanas, embora durante muitos anos tenha sido reconhecido que apenas algumas causam infecção regular (RAZZAGHI-ABYANEH, SHAMS-GHAHFAROKHI, RAI, 2015).

Figura 1 - Levedura, hifa e pseudohifa de *Candida albicans*



Fonte: adaptado de SUDBERY, 2011

Esses fungos dimórficos são comensais que colonizam assintomaticamente a pele e os tratos gastrointestinal e reprodutivo. Desequilíbrios na microbiota (ex. devido ao uso de antibióticos) e na resposta imune do hospedeiro (ex. terapias imunossupressoras ou infecções por outros microrganismos) ou ainda variações no ambiente local (ex. mudanças no pH),

podem resultar no desenvolvimento de uma gama de doenças invasivas a doenças não cutâneas decorrentes de *Candida*. Candidíase é uma infecção fúngica (micose) causada por qualquer das espécies de *Candida*, também conhecida tecnicamente como candidose, monilíase e oidomicose. *Candida albicans* é a espécie mais comumente isolada, porém espécies não-*albicans* como *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis* são patógenos emergentes e também podem colonizar superfícies mucocutâneas humanas. (DABAS, 2013; NOBILE, JOHNSON, 2015)

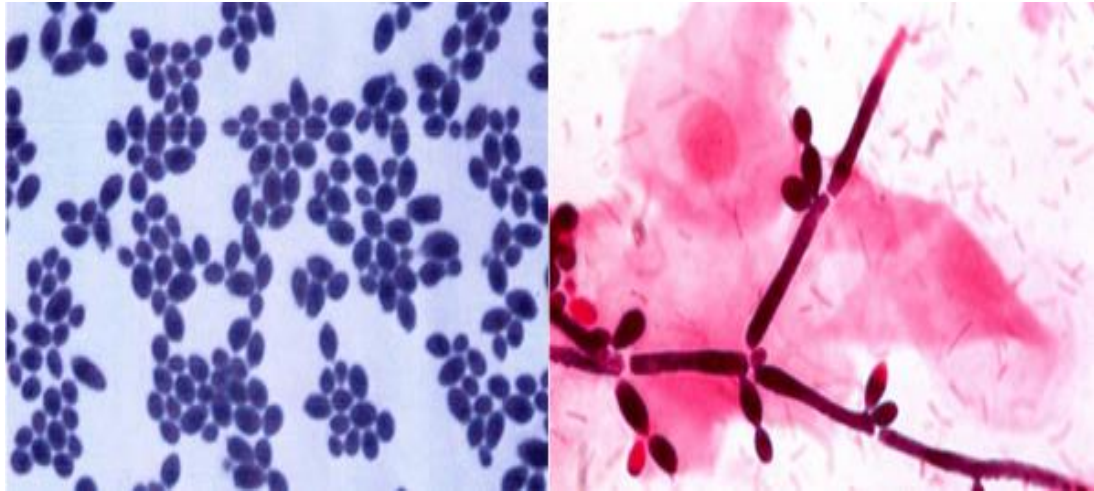
O habitat da *Candida albicans* e de outras espécies de *Candida* é bastante amplo, estando ligado, assim, à espécie humana e a todas as espécies de primatas até o momento investigadas, além de muitos mamíferos e pássaros. No homem, a *C. albicans* tem como habitat a mucosa digestiva e, por contiguidade, a mucosa vaginal. Dificilmente é isolada de uma pele sã. Esse isolamento está relacionado a uma doença de pele preexistente ou se traduz por uma proliferação excessiva no tubo digestivo, condições essas quase sempre associadas a quadros de candidíase. (SANTOS, 2012)

O gênero *Candida* difere de outras leveduras pela presença de pseudohifas ou micélio gemulante, vista ao exame direto do Gram e/ou cultura. Em meios de ágar ou em 24h a 37°C ou à temperatura ambiente, as espécies de *Candida* formam colônias de coloração creme e consistência mole, com odor de lêvedo. As pseudohifas aparecem como crescimento submerso, abaixo da superfície do ágar. A *C. albicans* possui ainda a particularidade de emitir hifas verdadeiras ou tubos germinativos após incubação em contato com soro humano durante cerca de 90 minutos a 37°C, observadas microscopicamente. Outro teste morfológico simples que distingue a *C. albicans* de outras espécies é a capacidade de produzir grandes clamidósporos esféricos em meios nutricionalmente deficientes. Testes de fermentação e assimilação de açúcares podem ser utilizados para confirmar a identificação das outras espécies de *Candida*. (BROOKS et al., 2014)

A *Candida albicans* é uma levedura gram positiva unicelular encontrada em 40 a 80% dos seres humanos. No esfregaço direto após coloração da amostra patogênica, as células leveduriformes podem ser vistas com frequência ligadas à pseudohifas, mostrando pontos regulares de constrição, que também são gram positivas (Figura 2). A plasticidade morfológica de *C. albicans* é um determinante de virulência, pois a forma de hifa tem papel fundamental no processo infeccioso. Quando causa infecção, geralmente o fungo está na forma de pseudohifas, forma resistente à fagocitose, enquanto o portador assintomático apresenta a forma de leveduras, que é também a forma de transmissão. A infecção pode ser causada por leveduras endógenas ou muitas podem ser nosocomiais, onde quanto mais

debilitado o hospedeiro, mais invasiva a doença. (ACHARYA, 2016; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012)

Figura 2 - *Candida albicans* na coloração de Gram e pseudohifas na coloração PAS



Fonte: ACHARYA, 2016

A CVV é uma das doenças fúngicas mais comuns da esfera genital. Em cerca de 85 a 90% das mulheres é causada por um sobrecrecimento de *Candida albicans*. Outras espécies como *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. pseudotropicalis* podem determinar quadros clínicos semelhantes e tendem a ser mais prevalentes nos casos crônicos, como também apresentar resistência aos tratamentos habituais. A candidíase manifesta-se por corrimento vaginal branco, grumoso e espesso, inodoro, que forma placas aderentes à vagina, eritema, edema e fissuras vulvares. (ROSSI et al., 2017; ÁGUAS, SILVA, 2012)

A microbiota vaginal normal é rica em lactobacilos (necessários para o metabolismo vaginal normal e manutenção do pH) e produtos de peróxido que formam ácidos lácticos a partir do glicogênio, cuja produção e secreção são estimuladas pelos estrogênios. Essas condições são favoráveis para o desenvolvimento de *Candida albicans*. O desencadeamento de CVV pode ser explicado pela própria fisiologia da mucosa, estando na dependência da produção de estrogênio, que transforma o glicogênio em glicose (substrato utilizado pelo fungo, favorecendo sua multiplicação). Quando ocorre qualquer alteração mínima nessa função hormonal, bem como na microbiota vulvovaginal em geral, o indivíduo pode apresentar um quadro infeccioso por *Candida* (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012; SMITH, TUREK, 2015).

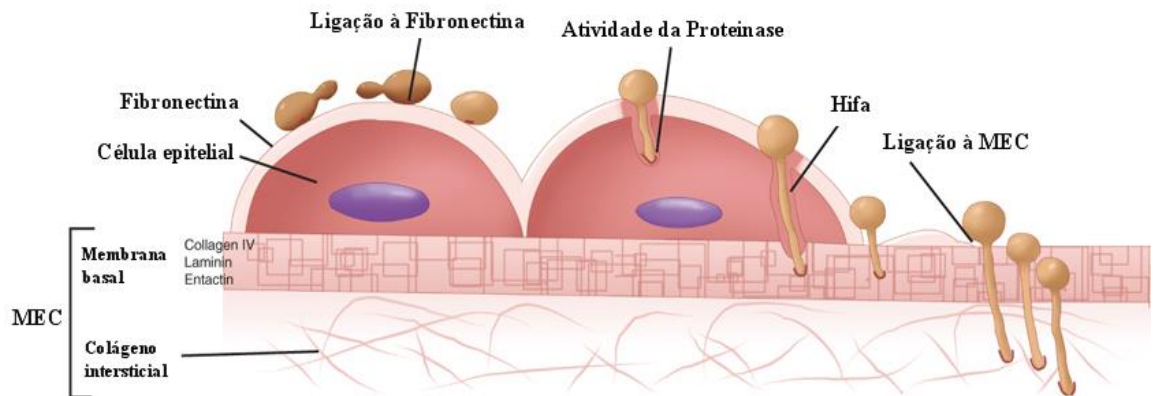
3 PATOGENIA

Geralmente a vulvovaginite por *Candida* ocorre quando há um desequilíbrio entre os fatores de proteção vaginal e a virulência do fungo, causado por alterações fisiológicas ou não-fisiológicas, tornando a colonização favorável para o desenvolvimento de leveduras. Assim, a infecção é consequência de uma alteração na relação de comensalismo que esse fungo tem com o hospedeiro. Como agentes patogênicos oportunistas, podem ocasionar infecções mucosas locais e, por vezes, podem propagar-se e colonizar muitos órgãos vitais. Ressalta-se, porém, que nem sempre se pode identificar qual o fator de desequilíbrio envolvido (KABIR, AHMAD, 2013).

Normalmente, as leveduras como *C. albicans* estão muito bem adaptadas ao corpo humano e podem colonizá-lo sem produzir sinais de doença. A manutenção da integridade das barreiras teciduais da mucosa, a relação harmônica da microbiota autóctone e o funcionamento adequado do sistema imunológico, entre outros, protegem o organismo, evitando que o fungo que coloniza o ambiente vaginal desencadeie um processo infeccioso. Em contrapartida, o fungo, por sua parte, expressa de forma equilibrada uma série de estratégias específicas para se estabelecer, colonizar, causar doença e superar as defesas de hospedeiros susceptíveis. (SANTANA et al., 2013)

A capacidade de infecção é suportada por uma ampla gama de fatores de virulência e atributos de adaptação. Consideram-se fatores de virulência a transição morfológica entre as formas de levedura e hifa, a expressão de adesinas e invasinas na superfície celular, o tigmotropismo e a secreção de enzimas hidrolíticas (Figura 3). Além disso, atributos de adaptação incluem rápido ajuste às flutuações do pH ambiental, flexibilidade metabólica, poderosos sistemas de aquisição de nutrientes e mecanismos robustos de resposta ao estresse. (MAYER, WILSON, HUBE, 2013)

O atributo de virulência mais amplamente aceito de *C. albicans* é a formação de hifas que levam à invasão e infecção. No entanto, o papel da morfogênese tem sido debatido por muitos anos. O ponto de vista mais popular é que as células hifas são mais invasivas e patogênicas que as de levedura, como tal, muitos dos fatores de virulência que promovem patogenicidade parecem estar inextricavelmente ligados à formação de hifa (por exemplo, adesão, formação de biofilme, invasão e indução de danos). (NAGLIK, 2014)

Figura 3 - Invasão e infecção por *Candida*

Fonte: adaptado de RYAN, RAY, 2016

A adesão a várias superfícies tem demonstrado desempenhar um papel central na patogênese de muitas infecções microbianas, representando o primeiro passo nos mecanismos de patogênese e sugere meios de controlar a infecção numa fase precoce. A aderência é mediada por glicoproteínas da parede celular de *C. albicans* e por moléculas específicas (denominadas adesinas) na superfície fúngica, que interagem com ligantes específicos da célula hospedeira como componentes da matriz extracelular (MEC). Esta interação pode ser influenciada pela temperatura, pH, nutrientes, IgA secretória e hidrofobicidade superficial celular. (AL-ZAHARAA et al., 2012; WILLIAMS et al., 2013)

A *Candida* pode emitir largos filamentos capazes de invadir em direção à profundidades dos tecidos, se houver maior quantidade de nutrientes nestas zonas, fenômeno conhecido como tigmotropismo. Um conjunto de fungos clinicamente importantes usam tigmotropismo, permitindo a invasão do hospedeiro através de feridas, invaginação de superfície ou qualquer outra área de integridade superficial enfraquecida. Ao crescer em uma variedade de superfícies em condições favorecendo o crescimento de hifas, pseudohifas de *C. albicans* crescem em uma modalidade helicoidal direita. Esta é provavelmente a razão pela qual o micélio de *Candida* parece ondulado e torcido em seções histológicas. (PIÉRARD, PIÉRARD, 2016)

A produção de exoenzimas leveduriformes também constitui importante mecanismo de patogenicidade. A *C. albicans* secreta várias enzimas hidrolíticas, tais como fosfatases ácidas, fosfolipases, proteinases, β -galactosidase, que desempenham um papel importante no desenvolvimento da candidíase. As enzimas hidrolíticas ajudam na aderência, na penetração no tecido e na proliferação de fungos, causando invasão e destruição dos tecidos hospedeiros,

fornecendo material degradado aos organismos como nutrientes. Além disso, a hemolisina é outro importante fator de virulência que também contribui para a patogênese candidal, pois provoca a lise de eritrócitos, seguido da aquisição de ferro, importante para sua sobrevivência e auxilia na invasão das hifas na candidíase disseminada. (PAWAR, PAWAR, AUTE, 2014)

Uma das principais características que estabelecem *C. albicans* como um patógeno bem sucedido é a sua adaptabilidade para prosperar com êxito em diferentes condições presentes em variados nichos de hospedeiros, como por exemplo, a disponibilidade de nutrientes, pH, hipóxia e níveis de CO₂. *C. albicans* possui flexibilidade metabólica, sendo capaz de usar fontes de carbono alternativas simultaneamente, para sua sobrevivência e virulência. Esta adaptação resultou da ausência de inativação de catabólitos devido ao recaneamento de locais de ubiquitinação em enzimas metabólicas. (DANTAS et al., 2016)

As demais espécies do gênero *Candida* também expressam fatores de virulência que contribuem para a colonização, patogenicidade e infecção dos tecidos, embora menos estudados. Possuem enzimas proteolíticas extracelulares capazes de degradar substratos, como a queratina, colágeno, albumina, fibronectina, hemoglobina, cadeia pesada de imunoglobulinas e proteínas da matriz extracelular, além de fatores de adesão às células epiteliais do hospedeiro e biomateriais, a formação de tubos germinativos e hifas. (ROSSONI et al., 2013)

Mulheres saudáveis podem desenvolver CVV esporadicamente, no entanto, esta infecção é muitas vezes atribuída à presença de fatores relacionados ao hospedeiro e comportamentais que perturbam o ambiente vaginal, promovendo CVV. Os fatores de risco relacionados ao hospedeiro incluem gravidez, reposição hormonal, diabetes mellitus não controlado, imunossupressão, uso de antibióticos e glicocorticoides, estresse e predisposições genéticas. Os fatores de risco comportamentais para CVV incluem o uso de contraceptivos, dispositivo intra-uterino, espermicidas e preservativos, e também alguns hábitos sexuais, higiênicos e de vestuário. (GONÇALVES et al., 2016)

A gestação é um fator relevante para desencadeamento da candidíase vaginal. Em decorrência dos elevados níveis hormonais, principalmente progesterona, a secreção vaginal de glicogênio aumenta com importante acidificação do meio, causando a redução da população bacteriana e favorecendo a proliferação fúngica. Além disso, os estrogênios na gravidez aumentam a adividez das células epiteliais vaginais para aderência da *Candida* e formação de micélios de levedura. Como a maioria dos contraceptivos orais contem estrogênio e progesterona, pelos mesmos motivos, também promovem o crescimento fúngico. (MITBAA et al., 2017)

O uso de dispositivos intra-uterinos (DIU) é outro fator de risco incriminado na gênese da CVV, devido a aderência e produção de biofilmes de *C albicans* na superfície do DIU, contribuindo para a colonização, exaustão da imunidade do hospedeiro, redução da susceptibilidade à antifúngicos e, portanto, a ocorrência de CVV, principalmente sob a forma recorrente. Médicos não recomendam DIU e contracepção oral para mulheres com alto risco de CVV. (SOBEL, 2014; MTIBAA et al., 2017)

O diabetes mellitus é uma doença sistêmica que cursa com uma maior suscetibilidade às infecções de uma forma geral. Quando descompensado ou mal controlado, os níveis elevados de glicemia levam a um aumento na concentração de glicose e glicogênio vaginal, com acidificação do meio e proliferação da levedura. A colonização vaginal por *Candida* é maior em mulheres medicadas com insulina ou com hipoglicemiantes orais, comparadas às normais (BRUSCH, 2015).

O uso de antibióticos constitui-se importante fator predisponente para a candidíase vaginal. O uso de antibióticos sistêmicos, principalmente os de amplo espectro, como as cefalosporinas, penicilinas e tetraciclina, leva à redução da flora bacteriana vaginal normal, particularmente de bacilos de Döderlein, diminuindo a competição por nutrientes e facilitando a proliferação de *Candida*. O uso de antibióticos locais também pode levar à mesma sequência. (RATHOD et al., 2012)

A utilização de corticoides, imunossupressores e agentes citostáticos também predispõe à infecção pela *Candida*, como também quadros de imunodeficiências adquiridas (pacientes com leucemia, linfoma e HIV/AIDS, por exemplo). Todas as infecções por *Candida* dependem do hospedeiro e portanto sua resposta imune é crucial na interação patógeno-hospedeiro. Julga-se que os corticoesteróides, por exemplo, interferem no sistema mononuclear fagocitário, diminuindo a reação antígeno-anticorpo. A infecção por HIV é um dos problemas ginecológicos responsáveis pela manifestação da CVV, que é a mais comum infecção de mucosa nessas pacientes. Em pacientes portadores do vírus HIV, a candidíase orofaríngea é conhecida por aparecer a qualquer momento durante a progressão da infecção pelo HIV, enquanto CVV sintomática desenvolve-se significativamente mais tarde (APALATA et al., 2014; OLIVEIRA, 2014; VÁSQUEZ-GONZÁLEZ, 2013).

Hábitos de estilo de vida também desempenham um papel importante no desenvolvimento de CVV, pela introdução de microorganismos para o ambiente vaginal e alterações da microbiota normal, como a falta de higiene correta após evacuações ou uso de roupas apertadas que promovem um ambiente quente e úmido. A CVV é frequentemente associada com a atividade sexual, embora as mulheres que não são sexualmente ativas possam

desenvolver infecções. A colonização assintomática da genitália masculina com *Candida* é quatro vezes mais comum nos parceiros sexuais de mulheres infectadas. (AMBIZAS, MANIARA, 2015)

Observações clínicas e achados experimentais enfatizaram o papel do estresse crônico como um importante fator desencadeante de muitas patologias, incluindo dermatite atópica, lúpus eritematoso sistêmico, asma, rinite alérgica e infecções por *Candida*. Níveis atenuados de cortisol matinal e hiporesponsividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal têm mostrado ser indicativos de estresse crônico. Além disso, o estresse pode aumentar o risco de comprometimento da função dos processos imunológicos. É possível que o estresse possa ser ainda um fator predisponente para CVV recorrente, bem como uma resposta a infecções repetidas. (AKIMOTO-GUNTHER et al., 2016)

Alterações no ambiente vaginal são geralmente necessárias para a alteração dos organismos oportunistas, como a *Candida*, de comensal para patogênica. O manejo da CVV envolve a identificação e o controle de fatores de risco que podem predispor à infecção. Apesar dos avanços científicos, ainda há uma série de mecanismos envolvidos no desenvolvimento desta infecção que precisam ser esclarecidas. (GONÇALVES et al., 2016)

Em homens, a importância das espécies de *Candida* não é clara, embora o agente possa ser transmitido entre parceiros sexuais, causando balanite ou balanopostite e, raramente, uretrite. Tipicamente, os homens desenvolvem uma resposta alérgica ao antígeno da *Candida*, embora a infecção repentina possa ser observada mais frequentemente em pacientes com os fatores de risco mencionados acima, como imunossupressão, diabetes mellitus e uso de antibióticos. (OMS, 2015)

3.1 IMUNOLOGIA

Ao ser ameaçado pela ação de algum agente infeccioso, todo organismo dispõe de uma série de recursos para evitar que a infecção se estabeleça. A resposta imune local e/ou sistêmica é sem dúvida alguma forma efetiva dentre estes recursos. Toda agressão despertará no organismo uma resposta imune inata, que se fará por meio da primeira linha de defesa constituída por leucócitos, interferon-gamma, células de langerhans. Dependendo das características do agente infectante (vírus, fungos, bactérias, protozoários, etc.) será liberada uma série de substâncias proteicas chamadas de citocinas que ativarão os sistemas de imunidade tardia ou adquirida (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2013).

Tal como outras superfícies mucosas (por exemplo, os tratos gastrointestinal e respiratório), o trato reprodutor feminino humano atua como uma barreira inicial aos antígenos estranhos. Neste papel, a superfície epitelial e as células imunitárias subepiteliais devem equilibrar a proteção contra agressões patogênicas e reações inflamatórias nocivas e a aceitação de antígenos estranhos particulares. (CLARK, SCHUST, 2013)

A imunidade mucosa do trato genital feminino (TGF) está relacionada com sua própria função, como a manutenção do desenvolvimento embrionário durante a gravidez e o funcionamento do órgão reprodutor feminino durante o ato sexual; quando em contato com o ambiente externo, a sua porção inferior (vagina e ectocérvice) está susceptível a vários microrganismos, possuindo uma microbiota comensal que consiste predominantemente de *Lactobacillus*. (MACHADO et al., 2014)

A imunidade mucosa consiste em respostas imunes inatas e adaptativas que podem ser influenciadas pela imunidade sistêmica e alterações hormonais durante o ciclo menstrual. A imunidade inata inclui barreiras tais como o epitélio, o muco, o pH, o sistema complemento e as células do sistema imunitário. A imunidade adaptativa é conduzida por células apresentadoras de antígenos (APCs) que, no trato genital feminino, incluem macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans e células epiteliais do colo do útero e endométrio. Os componentes efetores desse tipo de resposta são células TCD4+ (assim como as citocinas que secretam), células TCD8+ (células efectoras citotóxicas) e imunoglobulinas. (MACHADO et al., 2014)

A mucosa vaginal é a primeira barreira física e anatômica, de suma importância, a ser transposta pelo agente agressor. Histologicamente, ela é constituída por epitélio escamoso pluriestratificado e não queratinizado. Possui três camadas distintas: superficial, intermediária e profunda, sendo cada uma composta por aproximadamente dez fileiras de células epiteliais escamosas. As células epiteliais mucosas desempenham papéis importantes na imunidade inata por também enviar sinais ao sistema imunológico subjacente, produzir citocinas e quimiocinas, induzir a morte de células infectadas através de necrose, apoptose ou fagocitose, ativação da imunidade adaptativa e desenvolvimento de uma reação inflamatória aguda. (AMJADI et al., 2014)

O muco cervical produzido localmente pelas células glandulares do canal endocervical é constituído por uma camada viscoelástica de polímeros glicídicos e glicoproteínas poliméricas unidas por ligações não covalentes, estruturas estas que formam uma trama de filamentos anastomosados que dificultam a migração de microrganismos, através do colo uterino, para as vias genitais mais altas. O muco também fornece imunidade local através de

interações de imunoglobulinas (principalmente IgA), citocinas e hormônios reprodutivos (estrogênio e progesterona). Além disso, o muco é uma fonte rica em proteínas e peptídeos antimicrobianos, incluindo lisozimas, calprotectinas e beta-defensinas epiteliais. (NAKANO, LEÃO, ESTEVES, 2015)

Os *Lactobacillus*, bactérias saprófitas não patogênicas, oferecem proteção natural à mucosa vaginal contra as adversidades biológicas que podem agredir esse ecossistema, sendo consideradas autênticas guardiãs da saúde vaginal. Além de competir por nutrientes e receptores, possuem também a propriedade de inibir o crescimento, adesão e difusão de microorganismos patogênicos. Os lactobacilos formam ácido láctico a partir do glicogênio cuja produção de secreção é estimulada pelos estrogênios. Esse mecanismo propicia uma acidez adequada (pH 4.5), no ambiente vaginal, dificultando a proliferação da maioria dos patógenos, sendo a *Candida* uma exceção por sua resistência ao pH ácido. (HAYA et al., 2014).

O sistema complemento é composto por mais de trinta proteínas que podem estar solúveis no plasma ou ligadas à superfície de macrófagos e outros tipos celulares. Essas proteínas atuam nos sistemas de defesa adquirida do indivíduo e têm identificação alfanumérica: C1 a C9, fator B, fator D e properdina. Elas são sintetizadas principalmente pelo fígado e por células fagocíticas, agindo em cascata, transformando enzimas plasmáticas inativas em fragmentos peptídicos, biologicamente ativos. O sistema complemento desencadeia diversos mecanismos fisiológicos de defesa contra os agentes agressores, como a opsonização, quimiotaxia, a ativação da resposta imune humoral e celular e a lise de células alvo (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2013).

No TGF as principais células da imunidade inata são os macrófagos, células dendríticas e células exterminadoras naturais (NK). Como fagócitos profissionais, os macrófagos estão amplamente distribuídos e desempenham um papel importante no reconhecimento de patógenos, remoção de detritos e estimulação indireta do sistema imunológico pela produção de citocinas e quimiocinas. As células dendríticas são as principais apresentadoras de antígeno no TGF, não sendo apenas essenciais para a indução de respostas imunes primárias, mas também importantes para estimulação da imunidade adaptativa e indução da tolerância imunológica. Células NK usam uma variedade de mecanismos efetores pra promover as defesas imunes do hospedeiro e eliminar células infectadas. (AMJADI et al., 2014)

As fases efetoras da imunidade inata e adaptativa são muitas vezes reguladas por moléculas peptídicas conhecidas como citocinas. Na imunidade inata, as citocinas efetoras são produzidas por fagócitos mononucleares e células epiteliais, enquanto na imunidade adaptativa são produzidas por linfócitos T ativados capazes de induzir reações inflamatórias. Muitas destas citocinas, conhecidas como interleucinas (IL), são produzidas por certas populações de leucócitos que residem na corrente sanguínea, incluindo monócitos, neutrófilos ou eosinófilos. A resposta imune local contra a candidíase vaginal é mediada principalmente por linfócitos TCD4 (+). O padrão de resposta imune pode ser dividido em Th1 e Th2: o primeiro resulta na liberação de citocinas que ativarão a resposta celular mediada; o segundo promove a produção de um diferente grupo de citocinas que estimulará a produção de anticorpos (Interleucina 4,5 e 10). (YANO, NOVERR, FIDEL JR, 2012; CAMPOS et al., 2012)

A defesa imunológica contra *Candida albicans* é principalmente mediada por células. Embora a fagocitose represente o principal mecanismo pelo qual a *C. albicans* é controlada, as capacidades candidáticas intrínsecas tanto de granulócitos como de macrófagos são bastante limitadas e a expressão total do seu efeito depende do aumento das citocinas sintetizadas ou induzidas pelas células T. Além disso, mulheres com defeito na parte humoral do sistema imune específico não apresentam aumento na incidência de candidíase vaginal. Em contrapartida, mulheres com defeito na imunidade mediada por células têm alta prevalência de vaginite por *Candida*. (DINESHSHANKAR et al., 2014)

Evidências recentes indicam que a morfogênese de *Candida albicans* poderia também estar sob regulação do sistema imune. A formação de hifas a partir de esporos de *Candida albicans* pode ser obtida com prostaglandina E2 (PGE2), enquanto o interferon-gamma tem inibido a formação dessas hifas, mesmo na presença de PGE2. Entretanto, condições de imunossupressão dominante por PGE2, a habilidade de macrófagos e linfócitos T de inibir o crescimento da *Candida* é limitada. (MISHRA, ALI, SHUKLA, 2014)

O estudo dos vários fatores que influenciam ou alteram a microbiota vaginal é extremamente importante para se conhecer a etiopatologia dos processos infecciosos. Conhecer também todos os possíveis mecanismos de defesas da mucosa vaginal frente às agressões e infecções é fundamental para que se possam desvendar os complexos sistemas de manutenção da homeostase vaginal e terapêuticas mais eficientes. (SIQUEIRA et al., 2014)

4 EPIDEMIOLOGIA

A CVV é uma condição ginecológica comumente relatada e é diagnosticada em uma grande proporção de mulheres com queixa de corrimento vaginal anormal. Sua incidência tem aumentado drasticamente nos últimos anos. Embora não seja uma causa de mortalidade, a morbidade associada com CVV o torna uma importante causa de aflição mental e de custos econômicos. (RATHOD, BUFFLER, 2014)

Por não ser uma doença notificável, a informação sobre a incidência de CVV é incompleta e baseada em estudos epidemiológicos que são muitas vezes dificultados por imprecisões de diagnóstico e/ou uso de populações não representativas. A CVV é considerada a segunda causa mais comum de infecção genital nos Estados Unidos e Brasil. É estimado que 10% a 15% das pacientes assintomáticas são colonizadas com *Candida*, 70% a 75% das mulheres irão ter a experiência de um episódio de CVV, 50% das mulheres infectadas inicialmente irão sofrer um segundo evento de CVV e 5% a 10% de todas as mulheres desenvolverão candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR), definida como quatro ou mais episódios em um ano. (PEIXOTO, 2014; RATHOD, BUFFLER, 2014; GONÇALVES et al., 2016)

A incidência de CVV em mulheres sintomáticas varia de 12,1% a 57,3% nos estudos publicados nos últimos anos, dependendo tanto dos locais quanto das populações estudadas. As maiores incidências foram relatadas por estudos epidemiológicos feitos em países africanos, Tunísia, Brasil e Austrália. Em climas tropicais, os fungos assumem maior importância, particularmente do gênero *Candida*. Verifica-se ainda que a CVV ocorre em maior frequência em mulheres em idade reprodutiva (20-40 anos) do que aquelas na menopausa. (GONÇALVES et al., 2016)

A candidíase vulvovaginal é rara em mulheres antes da menarca. Em mulheres até os 25 anos, pelo menos um episódio de candidíase é frequentemente encontrado. Nas mulheres na pré-menopausa, em pelo menos 75% delas, observa-se um episódio de CVV. Nas mulheres pós-menopausa, a incidência é mais rara. Parece que o mecanismo imune local da vagina é responsável pela frequência dos episódios e a susceptibilidade é associada a uma condição de mucosa não-secretora, o que facilitaria a implantação da levedura. (ANVISA, 2014)

Embora a CVV seja uma doença comum, dados sobre a epidemiologia de *Candida* na população brasileira são raros. Um estudo observacional que avaliou a prevalência de

Candida em relatórios de citopatologia no estado do Rio Grande do Sul num período de 6 anos encontrou que a média de idade das pacientes foi de 35 anos e 7,1% dos exames foram positivos para *Candida*. Aproximadamente metade das pacientes estavam usando anticoncepcionais orais e observavam-se alterações no colo do útero. Outros estudos semelhantes no mesmo estado encontraram uma frequência de 18,2% e 24% de *Candida*. (PEREIRA et al., 2012)

Observa-se que a CVV é muito mais comum em mulheres grávidas do que em mulheres saudáveis. Além disso, uma grande proporção de mulheres com CVVR crônica apresenta-se pela primeira vez com a infecção durante a gravidez. Em mulheres grávidas, a CVV está relacionada ao estresse emocional e à supressão do sistema imunológico, o que aumenta o sobre crescimento das espécies de *Candida* que se tornam patogênicas. Num estudo realizado na África, no Hospital Distrital de Thika no Quênia, houve uma prevalência de 42,7% de CVV em mulheres grávidas atendidas na clínica pré-natal. Em outro estudo, no hospital Terciário de Ogbomoso na Nigéria, encontraram 60% de amostras positivas para *C. albicans* em mulheres grávidas assintomáticas. (NELSON, WANJIRU, MARGARET, 2013; NURAT et al., 2015)

A infecção fúngica é uma condição frequente no período neonatal. Nos recém-nascidos a infecção pode ser adquirida verticalmente da mãe ou horizontalmente por transmissão hospitalar no berçário. O uso cada vez maior da profilaxia antifúngica com azóis tem mudado a epidemiologia da candidemia em pacientes pediátricos imunodeficientes. Em lactentes de peso extremamente baixo ao nascimento, a candidíase invasiva é mais comum. A candidíase congênita, ou seja, adquirida ainda no útero, é surpreendentemente incomum, dada a taxa de 33% de colonização vaginal por *Candida* em mulheres grávidas em alguns estudos. Essa forma de candidíase apresenta-se como infecção cutânea difusa e ocasionalmente como pneumonia e sepse. (EICHENFIELD et al., 2016)

Espécies de *Candida* são uma das quatro causas mais comuns de infecções do sistema cardiovascular nos hospitais dos Estados Unidos, com uma taxa de mortalidade de até 50% entre os pacientes infectados. *C. albicans* é a causa predominante de infecções fúngicas invasivas e representa um grave desafio de saúde pública, com crescente importância médica e econômica, devido às altas taxas de mortalidade e ao aumento dos custos de atendimento e duração da hospitalização. Observa-se também que a incidência de infecções devidas a espécies não-*albicans* está aumentando, o que pode estar associado a imunossupressão ou doenças graves e exposição a antibióticos de amplo espectro. De acordo com estudos da candidemia na rede hospitalar brasileira, *C. albicans* representou 40,9% dos casos, seguido de

C. tropicalis (20,9%), *C. parapsilosis* (20,5%) e *C. glabrata* (4,9%). (KABIR, HUSSAIN, AHMAD, 2012; SARDI et al., 2013)

Embora seja significativa a prevalência da *Candida* como constituinte da microbiota vaginal, é mais provável que o principal reservatório seja o trato gastrointestinal (TGI), por ser encontrada em 56% das amostras. O TGI é a principal fonte de transmissão endógena dos fungos vaginais, por um processo que é feito através da auto-inoculação, onde as leveduras se adaptam ao meio e se desenvolvem. Em modelos animais, os três principais mecanismos que promovem a translocação dos microrganismos do TGI são os seguintes: ruptura do equilíbrio do microbioma normal, permitindo dominância intestinal de patógenos; aumento da permeabilidade da barreira mucosa intestinal e deficiências nas defesas imunitárias do hospedeiro (principalmente as defesas imunitárias celulares). Com tudo isso, a CVV raramente é uma doença transmitida sexualmente. (RAUGUST, DUARTE, 2013; KOH, 2013)

5 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

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. O diagnóstico da CVV requer um exame pélvico. A combinação de secreção branca espessa e prurido vulvar não é nem sensível nem específica por si só para o diagnóstico. Uma associação desses sinais com eritema e edema de tecidos vulvares e vaginais, são favoráveis ao diagnóstico correto. Contudo, deve-se ressaltar que, à especificidade da sintomatologia, os exames laboratoriais são indispensáveis, tendo em vista as causas irritativas que cursam paralelamente, com prurido e corrimento vaginal importantes. Além disso, considerando-se a emergente resistência antimicrobiana, é sugerido o isolamento e identificação da levedura, evitando-se terapias empíricas desnecessárias às pacientes. (RODRIGUES, 2013; SCHALKWYK et al., 2015)

A Vulvovaginite é determinada principalmente por um diagnóstico clínico, mas além da avaliação laboratorial que é essencial, um histórico completo e exame físico também é necessário para um diagnóstico preciso. As Diretrizes de Tratamento de DST de 2015 recomendam que os médicos indaguem especificamente sobre o ciclo menstrual da mulher, sua história sexual (incluindo o sexo dos parceiros sexuais e práticas sexuais específicas), práticas de higiene vaginal (como o banho vaginal) e quaisquer outras condições médicas subjacentes. (KINNEY, SPACH, 2017)

Os sintomas clínicos causados por espécies *albicans* e não-*albicans* de *Candida* são indistinguíveis. Alguns sintomas clássicos incluem prurido e dor vulvar, corrimento vaginal, dispareunia superficial e disúria externa. Entre os sinais apresentados por pacientes com CVV observa-se eritema, fissura, corrimento branco com aspecto de leite coagulado e grumoso, lesões satélites e edema. Nenhum destes sintomas e sinais é específico para o diagnóstico de candidíase, sendo importante descartar-se outras patologias e condições ligadas ao hospedeiro que possam estar envolvidas como por exemplo, reações alérgicas. (DANIELS, FORSTER, 2017)

O corrimento esbranquiçado é inodoro, e quando fica seco em contato com a roupa fica com um aspecto farináceo. Em alguns casos típicos aparecem pontos branco-amarelados no colo uterino e nas paredes vaginais. Os sintomas ficam mais evidentes no período pré-menstrual quando a acidez vaginal aumenta. Muitas mulheres são portadoras assintomáticas quando a *Candida* se apresenta em pequenas quantidades, e são necessárias algumas

alterações no ambiente vaginal para que a levedura induza seus efeitos e desenvolva a candidíase. (RAUGUST, DUARTE, 2013).

A avaliação da vaginite requer a inspeção visual da secreção vaginal, da vagina e do colo do útero, bem como a coleta e avaliação de uma amostra da secreção sob o microscópio. A visualização do colo do útero é importante para descartar a cervicite como fonte de corrimento vaginal anormal. As seguintes características da secreção vaginal devem ser observadas durante o exame: cor, viscosidade, adesão às paredes vaginais e presença de odor. (KINNEY, SPACH, 2017)

Em mulheres com corrimento vaginal anormal, e na ausência de um microscópio, a detecção de um pH <4,5 é um bom indicador de CVV e pode ajudar a diferenciá-la de uma vaginose bacteriana ou tricomoníase, as quais tipicamente produzem um pH >4,5. Um papel de pH com intervalo estreito (Whatman) é um método de baixo custo, sensível e simples de usar e está disponível na maioria dos lugares. (OMS, 2015)

5.1 CRITÉRIOS PARA DIAGNÓSTICO CLÍNICO

- Prurido e ardor vulvovaginal intensos, principalmente a micção;
- Escoriação, edema e eritema vulvar;
- Dispareunia;
- Lesões satélites vulvares (fissuras):
- Disúria; e
- Secreção vaginal branca, floculada e inodora.

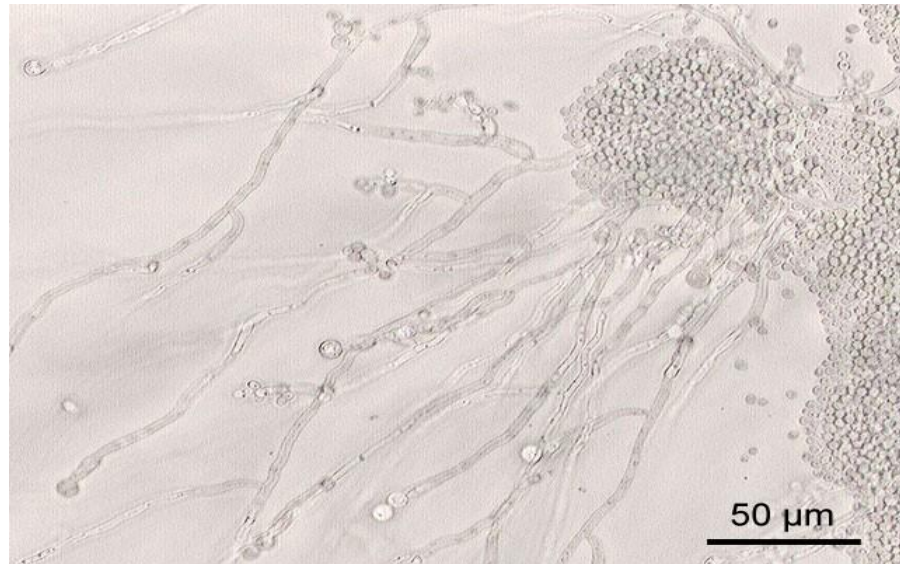
6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Para a coleta de espécimes, deve-se obter uma amostra de secreção da parede lateral da vagina com uma haste. Em pacientes com corrimento vaginal leve e comprometimento excessivo da vulva e lábios, é melhor que seja coletado um espécime da mucosa irritada. A microscopia direta pode ser realizada imediatamente na clínica, ou então o espécime pode ser transportado para o laboratório. Em homens com balanite, deve-se usar uma haste umedecida previamente em solução salina para coletar a amostra da glândula do pênis. (OMS, 2015)

6.1 EXAMES MICROSCÓPICOS

A presença de leveduras é facilmente constatada nos exames a fresco em solução salina ou corados, praticados no fluxo vaginal. É uma técnica de execução simples, rápida e econômica onde o gênero *Candida* separa-se das outras leveduras pela presença das pseudohifas ou micélio gemulante, associados também a esporos birrefringentes. Quando o exame direto não demonstrar a pseudohifa, a cultura o demonstrará facilmente. Porém, na candidíase, o exame direto deve mostrar as formas parasitárias, caso contrário, a cultura, mesmo positiva, não terá valor. (OLIVEIRA, 2014)

O exame microscópico com adição de hidróxido de potássio (KOH) facilita a demonstração dos elementos fúngicos e permite confirmar o diagnóstico com maior sensibilidade (Figura 4). A porcentagem varia entre 10% a 40%, dependendo da natureza do espécime. Neste caso, há melhor clareza na visualização das leveduras devido à dissolução dos leucócitos, hemácias e outros debrís proteicos em meio fortemente alcalino. São colocadas 2-3 gotas de KOH numa lâmina e então o espécime é disposto sob a gota, coberto com uma lamínula e aquecido suavemente com uma chama de Bunsen antes de passar pelo exame. (DEORUKHKAR, SAINI, 2014; SINGH, RAKSHA, 2013)

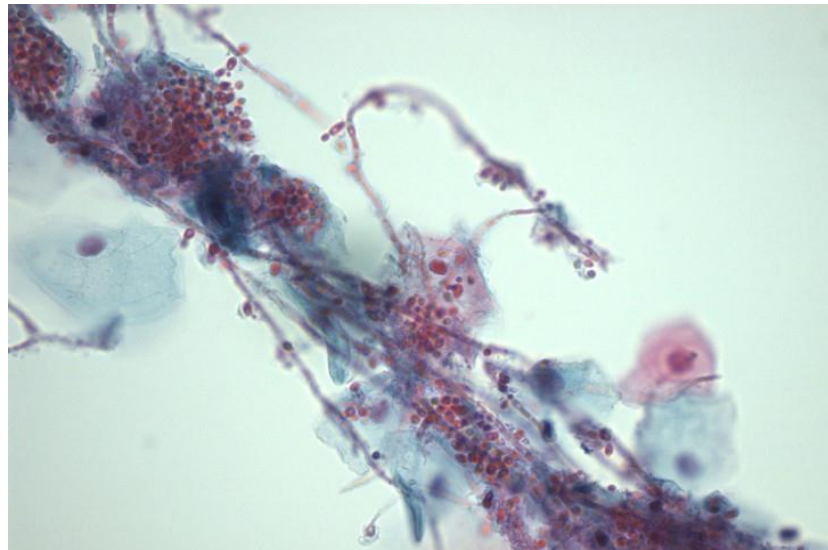
Figura 4 - *Candida albicans*

Fonte: MEKKES, 2015

Apesar de ser utilizada no rastreamento e detecção precoce do câncer do colo uterino, a colpocitologia tem sido empregada em alguns estudos de rastreamento de afecções ginecológicas, visando à identificação de agentes causadores de infecção genital. Além da identificação das formas patogênicas de *Candida*, permite avaliar as alterações inflamatórias associadas à candidíase. O método de coloração mais utilizado na colpocitologia é o Papanicolau (Figura 5), que permite facilmente o diagnóstico de candidíase em lesões com grandes quantidades de fungos, observando-se as pseudohifas e células leveduriformes de coloração rósea, refringentes, geralmente circundadas por halo claro, na periferia das células ou em acúmulos junto aos leucócitos e a detritos celulares. (SÁ et al., 2014)

Porém o melhor corante para identificação de *Candida* é o ácido periódico-Schiff (PAS), que cora os carboidratos existentes em grandes quantidades nas paredes das células fúngicas, embora pouco utilizado devido ao custo mais elevado (Figura 2). O método de Gram é frequentemente usado na rotina de laboratório porque é rápido e barato. Todos os fungos são gram-positivos, portanto o uso deste corante permite o reconhecimento das formas morfológicas de *Candida*, bem como a identificação e diferenciação de bactérias gram-positivas e gram-negativas na amostra. O esfregaço do conteúdo vaginal corado pelo método de Giemsa ou Azul de metileno também fazem parte da propedêutica laboratorial, permitindo identificar os esporos e as hifas com grau fortemente positivo. (PADILHA et al., 2014)

Figura 5 - *Candida spp.* na coloração de Papanicolau



Fonte: PATHOLOGIKA, 2017

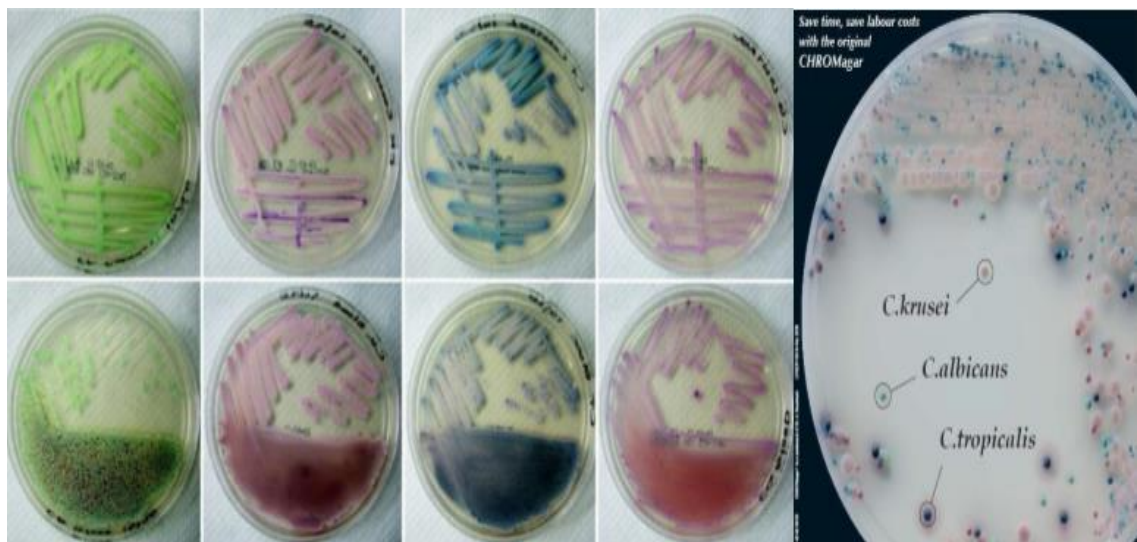
6.2 CULTURA

A cultura da secreção vaginal é o método mais sensível. A *Candida* é um organismo não fastidioso que cresce facilmente na maioria dos meios de cultivo laboratoriais utilizados para isolamento de fungos. O meio de ágar dextrose *Sabouraud* (SDA) é o meio mais utilizado para isolamento primário de *Candida*. Deve ser reservada aos casos em que há quadro clínico não confirmado pela microscopia ou ainda quando há recorrência pós-tratamento. A amostra inoculada deve ser incubada a 37°C durante 3 a 4 dias, se necessário, por 7 dias ou mais. Pode-se utilizar o corante azul de algodão (lactofenol) para examinar as células de levedura e pseudohifas sob o microscópio. (SINGH, RAKSHA, 2013)

No SDA, a *Candida* produz colônias opacas, com coloração de branca a creme. Possui ainda aspecto cremoso, liso, pastoso e convexo que podem tornar-se enrugadas em uma incubação mais prolongada. Por apresentar essas características, as leveduras separam-se facilmente dos fungos de micélio verdadeiro. As culturas de *Candida* separam-se das outras leveduras, a olho nu, pela observação contra a luz, do aspecto arborecente das bordas e reverso do meio de cultura; este aspecto corresponde, microscopicamente, à presença de pseudohifas. A suplementação de SDA com antibióticos como cloranfenicol e cicloheximida, torna o meio seletivo. Os antibióticos impedem o crescimento de bactérias, enquanto a cicloheximida evita a contaminação por fungos saprotróficos, (OMS, 2015; OLIVEIRA, 2014; DEORUKHKAR, SAINI, 2014)

Os meios cromogênicos tais como *CHROMagar Candida* e meio *Candiselect* são utilizados para identificação rápida de *Candida* (Figura 6). Estes meios contêm substratos cromogênicos que reagem com as enzimas segregadas pelas células da levedura, resultando em várias pigmentações. Estas enzimas são espécie-específicas e permitem a identificação das espécies com base na cor e características das colônias (Quadro 1). Embora os meios cromogênicos sejam mais caros, a utilização destes meios reduz o tempo necessário para a identificação de *Candida* em comparação com outros métodos convencionais. (DEORUKHKAR, SAINI, 2014; MOLINARO, CAPUTO, AMENDOEIRA, 2014)

Figura 6 - *CHROMagar Candida* no isolamento de diferentes espécies de *Candida*



Fonte: SINGH, RAKSHA, 2013

Quadro 2 – Identificação de espécies de *Candida* pela técnica de *CHROMagar Candida*

| Cor e aspecto típico da colônia | Microrganismo pré-identificado |
|--|---------------------------------------|
| Verde | <i>Candida albicans</i> |
| Azul-metálico | <i>Candida tropicalis</i> |
| Rosa, rugosa | <i>Candida krusei</i> |
| Branco à violeta | Outras espécies |

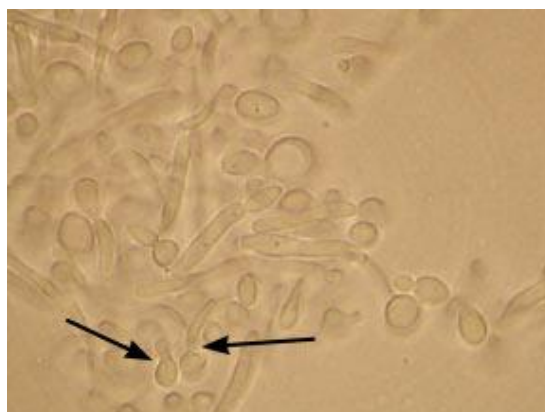
Fonte: MOLINARO, CAPUTO, AMENDOEIRA, 2014

Embora os meios específicos propiciem o crescimento do fungo, não permitem a identificação das espécies. Para essa finalidade, deve-se utilizar provas morfológicas e bioquímicas, pois pode se tratar de cepas mais resistentes, como é o caso das *Candidas* não-*albicans* (SÁ et al., 2014).

6.3 PROVAS FISIOLÓGICAS: TESTE DO TUBO GERMINATIVO E CULTIVO EM LÂMINA

As provas fisiológicas mais comuns e mais simples para identificação de *Candida albicans* e *Candida sp* são: tubo germinativo e filamentação em cultivo em lâmina. O princípio da prova do tubo germinativo está na capacidade de *C. albicans* em produzir estruturas curtas, esbeltas, semelhantes à tubos (Figura 7). Coloca-se uma pequena porção de colônia da levedura em 0,5 mL do soro de coelho (ou soro humano) e incuba-se a 37° C durante período máximo de 3 horas. Examina-se uma gota de suspensão em lâmina e verifica-se a presença de “tubo germinativo”. É um teste rápido e de baixo custo onde o observador deve ser capaz de diferenciar entre tubo germinativo e pseudohifas. As células filhas alongadas a partir da célula-mãe, sem constrição na sua origem, são referidas como tubos germinativos, enquanto que a constrição na origem das células-mãe é denominada pseudohifas. Um critério para a positividade do tubo germinativo é a observação de um mínimo de cinco tubos germinativos em toda a preparação. Os resultados negativos são confirmados pelo exame de pelo menos 10 campos para a presença de tubos germinativos. (OLIVEIRA 2014; DEORUKHKAR, SAINI, 2014)

Figura 7 - Tubos germinativos de *Candida albicans* em soro de coelho a 37°C



Fonte: MCDONALD, 2017

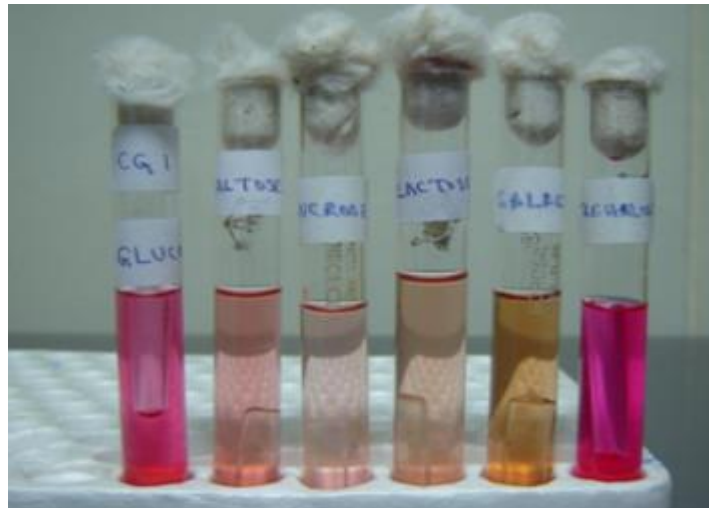
No cultivo em lâmina, avalia-se a capacidade de produção de hifas hialinas ramificadas que podem se fragmentar em esporos, denominados artroconídios. Estas hifas ocorrem nos gêneros *Geotrichum* e *Trichosporon*. Caso a levedura forme hifas hialinas ramificadas sem fragmentação, provavelmente pertence ao gênero *Candida* e se houver formação de clamidósporos característicos, é *Candida albicans*. Deposita-se ágar-fubá fundido sobre uma lâmina contida num suporte dentro de uma placa de Petri. Após solidificação do meio, semeia-se a levedura e mantém em câmara úmida para exame após 24h, 48h e 72h. (ANVISA, 2014)

2.6.4 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA

As espécies de *Candida* podem ser caracterizadas pelos padrões de uso de carboidratos específicos, baseados na sua assimilação e fermentação, por métodos manuais ou automatizados. A *Candida* metaboliza carboidratos tanto aerobicamente (assimilação) quanto anaerobicamente (fermentação). As leveduras que possuem a capacidade de fermentar um dado carboidrato também o assimilam, mas não necessariamente vice-versa. (DEORUKHKAR, SAINI, 2014)

Os testes de assimilação clássicos utilizam-se de métodos auxanográficos que consistem na incorporação de uma suspensão da levedura numa base sintética isenta de carbono e solidificada. Em seguida, adicionam-se 16 hidratos de carbono diferentes à placa, sendo então incubada a 35°C durante 24 e 48 horas. Qualquer crescimento visível, indicado por turbidez no local de incorporação de carboidratos é definido como assimilação positiva. (MONDELLI et al., 2012)

Os testes de fermentação são usados para suplementar os resultados dos testes de assimilação de carboidratos. A capacidade das leveduras de usar determinados carboidratos como fonte de energia para produzir etanol e dióxido de carbono (CO₂) são analisadas sob baixa tensão de oxigênio, num meio de crescimento líquido com o inóculo e 6 hidratos de carbono em tubos de Durham. Os resultados são geralmente analisados às 24, 48 e 72 horas e aos 5º, 10º e 14º dias. A produção de gás é tomada como fermentação positiva, adquirindo uma cor rosa no líquido (Figura 8). Os resultados dos testes de assimilação e fermentação são comparados à chaves bem estabelecidas, que trazem um painel das possíveis identificações das espécies de *Candida* (Quadro 2). (MONDELLI et al., 2012; GIRI, KINDO, 2015)

Figura 8 - Teste de fermentação de carboidratos positivo para *Candida glabrata*

Fonte: GIRI, KINDO, 2015

Quadro 2 – Chave de identificação das principais espécies de *Candida* de interesse médico.

| Levedura | Tg | Cultivo em lâmina | | Assimilação | | | | | | | | | Fermentação | | | | | |
|--------------------------|----|-------------------|----|-------------|----|----|----|----|----|---|---|-----------------|-------------|----|----|----|----|----|
| | | Hf | Ar | Sa | Ma | La | Ce | Tr | Ra | X | I | NO ₃ | Gl | Sa | Ma | La | Ra | Tr |
| <i>C. albicans</i> | + | + | - | + | + | - | - | + | + | + | - | - | + | - | + | - | - | V |
| <i>C. tropicalis</i> | - | + | - | + | + | - | V | + | + | + | - | - | + | V | + | - | - | + |
| <i>C. parapsilosis</i> | - | + | - | + | + | - | V | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - | V |
| <i>C. krusei</i> | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>C. guilliermondii</i> | - | + | - | + | + | - | + | + | + | + | - | - | + | - | - | - | + | V |
| <i>C. glabrata</i> | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + |

Legenda: Tg = tubo germinativo, Hf= hifa, Ar = artrósporo, Sa = sacarose, Ma=maltose,La = lactose, Ce = celubiose, Tr = trealose, Ra = rafinose, X = xilose, I = inositol,NO₃ = nitrato, Gl = glicose, + = pos, - = neg, V= variável

Fonte: ANVISA, 2014

6.5 MÉTODOS MOLECULARES

O diagnóstico molecular, embora possível, não é feito na rotina para o diagnóstico de candidíase. Algumas das técnicas incluem análise de polimorfismo de comprimento de fragmento (RFLP), análises de hibridização *southern*, análise do perfil de RNAt e reação em

cadeia de polimerase (PCR). A tecnologia de base molecular que sem dúvida teve o maior impacto no diagnóstico clínico de infecções por *Candida* é a PCR. Esta técnica pode detectar quantidades altamente limitadas de ácido nucléico microbiano a partir de sangue, espécimes de tecido assim como microorganismos cultivados. Apesar do crescente desenvolvimento de novas abordagens moleculares, a grande maioria do diagnóstico clínico de candidíase baseia-se em metodologias não-moleculares devido à reduzida quantidade de equipamentos de PCR em laboratórios hospitalares, problemas de preparação de amostras e contaminação ambiental e ausência de protocolos padronizados para metodologias de PCR. (SILVA et al., 2012)

7 CONCLUSÃO

A *Candida* é um fungo oportunista que provoca a candidíase. A candidíase vaginal é uma das causas mais frequentes de infecções genitais e, em geral, é uma doença primária, isto é, surge em decorrência de algum desequilíbrio da microbiota vaginal normal da própria paciente ou alterações no seu estado imunológico, levando à proliferação fúngica e invasão tecidual. A sua patogenia é bastante complexa e diversos fatores de risco foram descritos nos últimos anos.

A Vulvovaginite é determinada principalmente por um diagnóstico clínico, mas deve-se levar em consideração um histórico completo e exame físico das pacientes, além da avaliação laboratorial que envolve técnicas convencionais e avançadas, que se tornam essenciais para um diagnóstico preciso e um resultado terapêutico melhorado.

As infecções fúngicas em instituições de assistência à saúde passaram a ter uma grande importância nos últimos anos, devido ao seu aumento progressivo e pelas altas taxas de morbidade e mortalidade. Com este estudo, portanto, pretende-se contribuir para o conhecimento da população em geral e dos profissionais de saúde, para melhoria da conduta aos pacientes acometidos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

ACHARYA, T. **Candida albicans: pathogenesis, diseases and laboratory diagnosis**. 2016. Disponível em: <<http://microbeonline.com/candida-albicans-pathogenesis-diagnosis/>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

ÁGUAS, F.; SILVA, D.P. **Revisão dos Consensos em Infecções Vulvovaginais**. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/267024165_Revisao_dos_Consensos_em_Infeccoes_Vulvovaginais_2012>. Acesso em: 15 abr. 2017.

AKIMOTO-GUNTHER, L.; BONFIM-MENDONÇA, P.S.; TAKAHACHI, G.; IRIE, M.M.T.; MIYAMOTO, S.; CONSOLARO, M.E.L.; SVIDZINSK, T.I.E. Highlights regarding host predisposing factors to recurrent vulvovaginal candidiasis: Chronic stress and reduced antioxidant capacity. **Plos One**, v. 11, n. 7, p. 01-14, 2016.

AL-ZAHARAA, A.K.E.; AL-BASRI, H.M.; EL-NAGGAR, M.Y. Critical factors affecting the adherence of *Candida albicans* to the vaginal epithelium. **Journal of Taibah University for Science**, v. 6, n. 2012, p. 10-18, 2012.

AMBIZAS, E.M.; MANIARA, B. Nonprescription Management of Vulvovaginal Candidiasis. **US Pharmacist**, v 40, n. 9, p. 13-19, 2015.

AMJADI, F.; SALEHI, E.; MEHDIZADEH, M.; AFLATOONIAN, R. Role of the innate immunity in female reproductive tract. **Advanced Biomedical Research**, v. 3, n. 01, p. 01-42, 2014.

ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 2014. Disponível em: <<http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/category/manuais>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

APALATA, T.; CARR, W.H.; STURM, W.A.; LONGO-MBENZA, B.; MOODLEY, P. Determinants of symptomatic vulvovaginal candidiasis among human immunodeficiency virus type 1 infected women in rural KwaZulu-Natal South Africa. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2014, p. 01-10, 2014.

BROOKS, G.F.; CARROLL, K.C.; BUTEL, J.S.; MORSE, S. A.; MIETZNER, T.A. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. 26 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

BRUSCH, J.L. **Urinary tract infections in Diabetes Mellitus**. 2015. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/2040207-overview>>. Acesso em: 15 abr. 2017.

CAMPOS, A.C.C.; MURTA, E.F.C.; MICHELIN, M.A.; REIS, C. Evaluation of cytokines in endocervical secretion and vaginal pH from women with bacterial vaginosis or human papillomavirus. **ISRN Obstetrics and Gynecology**, v. 2012, p. 01-7, 2012.

CLARK, G.F.; SCHUST, D.J. Manifestations of immune tolerance in the human female reproductive tract. **Frontiers in Immunology**, v. 4, p. 01-14, 2013.

DABAS, P.S. An approach to etiology, diagnosis and management of different types of candidiasis. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 4, n. 6, p. 63-74, 2013.

DALL'ALBA, M.P.; JASKULSKI, M.R. Prevalência de vaginoses bacterianas causadas por *Gardnerella vaginalis* em um laboratório de análises clínicas na cidade de Expedito do Sul RS. **Perspectiva**, v. 38, p. 91-99, 2014.

DANIELS, D.; FORSTER, G. National Guideline on the Management of Vulvovaginal Candidiasis. 2017. Disponível em: < <https://www.bashh.org/documents/50/50.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

DANTAS, A.S.; LEE, K.L.; RAZIUNAITE, I.; SCHAEFER, K.; WAGENER, J.; YADAV, B.; GOW, N.A.R. Cell biology of *Candida albicans*-host interactions. **Current Opinion in Microbiology**, v. 34, p. 111-118, 2016.

DEORUKHKAR, S.C.; SAINI, S. Laboratory approach for diagnosis of candidiasis through ages. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 01, 2014.

DINESHSHANKAR, J.; SIVAKUMAR, M.; KARTHIKEYAN, M.; UDAYAKUMAR, P.; SHANMUGAM, K.T.; KESAVAN, G. Immunology of oral candidiasis. **Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences**, v. 6, p. 9-12, 2014.

EICHENFIELD, L.F.; FRIEDEN, I.J.; MATHES, E.F.; ZAENGLEIN, A.L. **Dermatologia neonatal e infantil**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

FERREIRA, J.E.L.; ALVEZ, M.C.; MARTINS, M.C.V.; ROSA, M.P.R.S.; GONÇALVES, M.C. Perfil da população atendida em um consultório de atendimento integral à saúde da mulher. **Cadernos de Graduação – Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 3, n. 1, p. 127-140, 2015.

FREITAS, B.; PIRES, D.V.D.C. **Fatores de risco associados à candidíase vulvovaginal**. 2016. Disponível em: < http://www.unifia.edu.br/revista_eletronica/revistas/saude_foco/artigos/ano2016/027_fatores_risco_candidiase_vulvovaginal.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2017.

GONÇALVES, B.; FERREIRA, C.; ALVES, C.T.; HENRIQUES, M.; AZEREDO, J.; SILVA, S. Vulvovaginal candidiasis: epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.

HAYA, J.; GARCÍA, A.; LÓPEZ-MANZANARA, C.; BALAWI, M.; HAYA, L. Importance of lactic acid in maintaining vaginal health: a review of vaginitis and vaginosis etiopathogenic

bases and a proposal for a new treatment. **Open Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 4, p. 787-799, 2014.

KABIR, M.A.; HUSSAIN, M.A.; AHMAD, Z. *Candida albicans*: a model organism for studying fungal pathogens. **ISRN Microbiology**, v. 2012, p. 01-15, 2012.

KABIR, M.A.; AHMAD, Z. *Candida* infections and their prevention. **ISRN Preventive Medicine**, v. 2013, p. 01-13, 2013.

KINNEY, R. G.; SPACH, D.H. **Vaginitis**. 2017. Disponível em: <<http://www.std.uw.edu/go/syndrome-based/vaginal-discharge/core-concept/all>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

KOH, A.Y. Murine models of *Candida* gastrointestinal colonization and dissemination. **Eukaryotic Cell**, v. 12, p. 1416-1422, 2013.

MACHADO, J.R.; SILVA, M.V.; CAVELLANI, C.L.; REIS, M.A.; MONTEIRO, M.L.G.R.; TEIXEIRA, V.P.A.; CORRÊA, R.R.M. Mucosal immunity in the female genital tract HIV/AIDS. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 01-20, 2014.

MAYER, F.L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.

MCDONALD, W. **Medically Important Fungi**. 2017. Disponível em: <http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/medimportfung.html>. Acesso em: 16 abr. 2017.

MEKKES, J.R. **Candidiasis vulvae**. 2015. Disponível em: <<http://www.huidziekten.nl/zakboek/dermatosen/ctxt/candida-vulvovaginitis.htm>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

MISHRA, N.N.; ALI, S.; SHUKLA, P.K. Arachidonic acid affects biofilm formation and PGE2 level in *Candida albicans* and non-albicans species in presence of subinhibitory concentration of fluconazole and terbinafine. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 287-293, 2014.

MITBAA, L.; FAKHFAKH, N.; KALLEL, A.; BELHADJ, S.; SALAH, N.B.; BADA, N.; KALLEL, K. Vulvovaginal candidiasis: etiology, symptomatology and risk factors. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 01, p. 01-06, 2017.

MOLINARO, E.M.; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. 2014. Disponível em: <<http://brasil.campusvirtualsp.org/node/198036>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

MONDELLI, A.L.; NIÉRO-MELO, L.; BAGAGLI, E.; CAMARGO, C.H.; BRUDER-NASCIMENTO, A.; SUGIZAKI, M.F.; VILLAS BOAS, P.J.F. *Candida spp.*: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform). **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 18, n. 3, p. 335-339, 2012.

NAGLIK, J.R. *Candida* Immunity. **New Journal of Science**, v. 2014, p. 01-27, 2014.

NAKAMURA, H.M.; CALDEIRA, S.M.; AVILA, M.A.G. Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. **Revista SOBECC**, v. 18, n. 3, p. 49-58, 2013.

NAKANO, F.Y.; LEÃO, R.B.F.; ESTEVES, S.C. Insights into the role of cervical mucus and vaginal pH in unexplained infertility. **Medical Express**, v.2, n. 2, p. 01-8, 2015.

NELSON, M.; WANJIRU, W.; MARGARET, M.W. Prevalence of vaginal candidiasis and determination of the occurrence of *Candida* species in pregnant women attending the Antenatal Clinic of Thika District Hospital Kenya. **Open Journal of Medical Microbiology**, v. 3, p. 264-272, 2013.

NOBILE, C.J.; JOHNSON, A.D. *Candida albicans* biofilms and human disease. **Annual Reviews Microbiology**, v. 69, p. 71-92, 2015.

NURAT, A.A.; OLA, B.G.; OLUSHOLA, S.M.; MIKHAIL, T.A.; AYODEJI, A.S. Detection and epidemiology of vulvovaginal candidiasis among asymptomatic pregnant women attending a tertiary hospital in Ogbomoso Nigeria. **International Journal of Biomedical Research**, v. 6, n. 7, p. 518-523, 2015.

OLIVEIRA, J.C. **Tópicos em Micologia Médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Control-Lab, 2014.

OMS. **Diagnóstico laboratorial de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo o vírus da imunodeficiência humana**. 2015. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/publicacao/2015/diagnostico-laboratorial-de-doencas-sexualmente-transmissiveis-incluindo-o-virus-da->>. Acesso em: 16 abr. 2017.

PADILHA, C.M.L.; PICCIANI, B.L.S.; SANTOS, B.M.; JÚNIOR, A.S.; DIAS, E.P. Comparative analysis of Gram's method and PAS for the identification of *Candida spp.* samples from the oral mucosa. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 5, p. 352-358, 2014.

PATHOLOGIKA. **Citologia Cervico-vaginal**. 2017. Disponível em: <<http://pathologika.com/citologia/citologia-cervico-vaginal/bethesda-2001/interpretacao-resultado/>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

PAWAR, P.R.; PAWAR, V.A.; AUTE, R.A. Comparative study on hydrolytic enzymes produced by diferente morphological forms of *Candida albicans*. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 4, p. 66-68, 2014.

PEIXOTO, J.V.; ROCHA, M.G.; NASCIMENTO, R.T.L.; MOREIRA, V.V.; KASHIWABARA, T.G.B. Candidíase – uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 8, n. 2, p. 75-82, 2014.

PEREIRA, D.C.; BACKES, L.T.H.; CALIL, L.N.; FUENTEFRIA, A.M. A six-year epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in cytopathology reports in the state of Rio Grande do Sul Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, 41, n. 2, p. 163-168, 2012.

PIÉRARD, G.E.; PIÉRARD, S.L. Nail histomycology, onychochromobiology, and fungal thigmotropism. **The Open Access Journal of Science and Technology**, v. 4, p. 01-6, 2016.

RATHOD, S.D.; BUFFER, P.A. Highly-cited estimates of the cumulative incidence and recurrence of vulvovaginal candidiasis are inadequately documented. **BMC Women's Health**, v. 14, p. 01-04, 2014.

RATHOD, S.D.; KLAUSNER, J.D.; KRUPP, K.; REINGOLD, A.L.; MADHIVANAN, P. Epidemiologic features of vulvovaginal candidiasis among reproductive-age women in India. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2012, p. 01-8, 2012.

RAUGUST, T.M.; DUARTE, A.C.R. **Aspectos clínicos, epidemiológico e diagnóstico de *Candida sp*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis***. 2013. Disponível em: < www.revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/download/548/671>. Acesso em: 16 abr. 2017.

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; RAI, M. **Medical Mycology: Current Trends and Future Prospects**. 1ed. New York: CRC Press, 2015.

RYAN, K.J.; RAY, C.G. **Sherris Medical Microbiology**. 6 ed. New York: McGraw-Hill Education, 2016.

RODRIGUES, M.T.; GONÇALVES, A.C.; ALVIM, M.C.T.; FILHO, D.S.C.; ZIMMERMANN, J.B.; SILVA, V.L.; DINIZ, C.G. Associação entre cultura de secreção vaginal, características sociodemográficas e manifestações clínicas de pacientes com diagnóstico de candidíase vulvovaginal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, n. 12, p. 554-561, 2013.

ROSSI, P.; NEME, R.M.; RIBEIRO, R.M.; PINOTTI, J.A. **Vulvovaginites**. Disponível em: < http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=1456 >. Acesso em: 14 abr. 2017.

ROSSONI, R.D.; BARBOSA, J.O.; VILELA, S.F.G.; JORGE, A.O.C.; JUNQUEIRA, J.C. Comparison of the hemolytic activity between *C. albicans* and non-*albicans* *Candida* species. **Brazilian Oral Research**, v. 27, n. 6, p. 484-489, 2013.

SÁ, M.C.N.; SOUSA, H.R.; AMARO, C.S.O.; PINHEIRO, D.N.; OLIVEIRA, M.M.M.; PINHEIRO, M.C.N. Isolamento de *Candida* no esfregaço cérvico-vaginal de mulheres não gestantes residentes em área ribeirinha do Estado do Maranhão Brasil 2012. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 1, p. 25-34, 2014.

SANTANA, D.P.; RIBEIRO, E.L.; MENEZES, A.C.S.; NAVES, P.L.F. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 2, p. 229-233, 2013.

SANTOS, K.K.A. **Atividade antiepimastigota, citotóxica e fungicida de plantas medicinais da Região do Cariri**. Crato: Universidade Regional do Cariri, 2012.

SARDI, J.C.O.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FFUSCO-ALMEIDA, A.M.; GIANNINI, M.J.S.M. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural

antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 10-24, 2013.

SCHALKWYK, J.V.; YUDIN, M.H. Vulvovaginitis: screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada**, v. 37, n. 3, p. 266-274, 2015.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D.W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, p. 288-305, 2012.

SIMÕES, R.J.; FONSECA, P.; FIGUEIRAL, M.H. Infecções por *Candida spp* na Cavidade Oral. **Odontologia Clínico-Científica**, v. 12, n. 01, p. 19-22, 2013.

SINGH, G.; RAKSHA, A.D.U. Candidal infection: epidemiology, pathogenesis and recente advances for diagnosis. **Bulletin of Pharmaceutical and Medical Sciences**, v. 01, n. 01, p. 01-8, 2013.

SIQUEIRA, J.S.S.; BATISTA, S.A.; SILVA JÚNIOR, A.; FERREIRA, M.F.; AGOSTINI, M.; TORRES, S.R. Candidíase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 176-179, 2014.

SMITH, R.P.; TUREK, P.J. **Coleção Netter de Ilustrações Médicas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

SOBEL, J.D. Genital candidiasis. **Medicine**, v. 42, p. 364-368, 2014.

SUDBERY, P.E. Growth of *Candida albicans* hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 737-748, 2011.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed. 2012

VASCONCELOS, C.N.E.; SILVA, N.N.P.; BATISTA, P.N.; KALIL, J.H. Estudo comparativo entre terapia oral e local no tratamento de corrimentos vaginais: candidíase, tricomoníase e vaginose bacteriana. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 15, n. 01, p. 123-128, 2016.

VÁSQUEZ-GONZÁLEZ, D.; PERUSQUÍA-ORTÍZ; HUNDEIKER, M.; BONIFAZ, A. Opportunistic yeast infections: candidiasis, cryptococcosis, trichosporonosis and geotrichosis. **Journal of the German Society of Dermatology**, v. 11, n. 5, p. 381-393, 2013.

WILLIAMS, D.W.; JORDAN, R. P.C.; WEI, X.; ALVES, C.T.; WISE, M.P.; WILSON, M.J.; LEWIS, M.A.O. **Journal of Oral Microbiology**, v. 5, p. 01-8, 2013.

YANO, J.; NOVERR, M.C.; FIDEL JÚNIOR, P.L. Cytokines in the host response to *Candida* vaginitis: identifying a role for non-classical immune mediators S100 alarmins. **Cytokine**, v. 58, n. 01, p. 118-128, 2012.