

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E PERFIL DA SUSCETIBILIDADE DE AMOSTRAS DE CANDIDA ISOLADAS DE MULHERES COM CANDIDIASE VULVOVAGINAL EM FREDERICO WESTPHALEN – RS.

Epidemiologic and susceptibility study of Candida isolated from women with vulvovaginal candidiasis in Frederico Westphalen – RS

Carlos Eduardo Blanco Linares¹, Gabriela Dagios², Magda Regina Carat², Marcos Paulo Gasparin², Alexandre Tiburski Neto², Liliâne Alves Scheid³, Alexandre Schubert¹

RESUMO

As infecções causadas por *Candida* são micoses oportunistas reconhecidas desde o século V a.C. O gênero *Candida* é caracterizado como fungo leveduriforme, saprófita e oportunista, que sob determinadas condições multiplica-se, tornando-se patogênico. Células de *Candida* são encontradas na vagina em 20% de mulheres sadias e assintomáticas. A candidíase vaginal ocorre, principalmente, nas mulheres que estão entre a puberdade e a menopausa, sugerindo dependência hormonal na infecção. No período de agosto de 2004 a junho de 2005 foram realizadas coletas de amostras de secreções vaginais de mulheres com sintomatologia de infecção vulvovaginal atendidas em três estabelecimentos de saúde de Frederico Westphalen – RS. As amostras positivas foram identificadas e a sensibilidade frente os antifúngicos fluconazol e anfotericina B foi avaliada. Os resultados obtidos demonstram que *Candida spp.* ocupou o quarto lugar dentre todas as espécies isoladas causando infecções vulvovaginais, sendo que a identificação apontou *Candida albicans* como espécie mais prevalentemente isolada. Os testes de suscetibilidade revelaram que *Candida glabrata* foi mais sensível do que *Candida albicans* e *Candida tropicalis* a anfotericina B. Frente ao fluconazol *Candida albicans* e *Candida tropicalis* foram consideradas sensíveis. De acordo com as normas do NCCLS os isolados foram considerados sensíveis a anfotericina B e fluconazol.

Palavras-chaves: *Candida*, candidíases vulvovaginal, antifúngicos

Trabalho realizado no Laboratório de Micologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e da Missões – URI; Frederico Westphalen, RS, Brasil.

¹ Professor titular na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Frederico Westphalen.

² Acadêmico(a) do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Frederico Westphalen.

³ Curso de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

INTRODUÇÃO

As infecções causadas por *Candida* são micoses oportunistas, as quais são reconhecidas desde o século V a.C. *Candida* é um fungo saprófita e oportunista, que sob determinadas condições multiplica-se, tornando-se patogênico (Bodey, 1992; Prado *et al*, 1999) sendo encontrada na vagina em 20% de mulheres sadias e assintomáticas (Val & Filho, 2001). A candidíase vaginal ocorre, principalmente, nas mulheres que estão entre a puberdade e a menopausa. Na infância e no climatério, a incidência da infecção causada por *Candida* spp. é baixa, sugerindo dependência hormonal na infecção (Prado *et al*, 1999).

Acredita-se que aproximadamente 75 % das mulheres apresentam, pelo menos, um episódio de infecção fúngica na sua vida e, em torno de 40 a 50 % tem um novo surto posteriormente. Nos últimos anos, a incidência tem aumentado em razão do maior número de infecções causadas por espécies de *Candida* não-*albicans* (Prado *et al*, 1999).

De acordo com a abordagem atual em relação à candidíase vulvovaginal, é de importância o conhecimento epidemiológico destas infecções, principalmente em relação à sua frequência, à sua recorrência e às falhas terapêuticas (Val & Filho, 2001).

Diante disto, é importante a realização de estudos que investiguem a incidência de candidíase vulvovaginal, identificando e avaliando a suscetibilidade das espécies mais frequentemente isoladas (Sidrim & Moreira, 1999).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Bioética em Pesquisa da URI – Campus de Frederico Westphalen RS sob o número de Registro 053-2/PIH/04.

Entrevista: informações referentes a idade, indumentária, diabetes, uso de anticoncepcionais, antifúngico e reincidência de candidíase vulvovaginal foram investigados através de um questionário pré-estruturado.

Coletas e diagnóstico: as coletas foram realizadas através de swabs estéreis de secreções vaginais em três estabelecimentos da área da saúde

do município de Frederico Westphalen-RS. Através de exame microscópico a fresco, buscava-se elementos fúngicos característicos como a presença de hifas, pseudo-hifas e/ou blastoconídios.

Isolamento e identificação: o material coletado era semeado em placas de Petri contendo ágar Mycobiotic e incubadas a 35 °C até 5 dias. Para a identificação das espécies isoladas utilizaram-se as seguintes técnicas: teste do tubo germinativo (Reynolds & Braude, 1956); auxanograma com diferentes fontes de carbono (Sidrim & Moreira, 1999).

Testes de suscetibilidade: foram realizados com base na técnica M-27-A2 do National Committee for Clinical Laboratory Standards frente ao fluconazol e anfotericina B (NCCLS Document M-27-A2, 2002).

RESULTADOS

Um total de 702 pacientes foram atendidas em três estabelecimentos de saúde de Frederico Westphalen entre agosto de 2004 e junho de 2005, sendo que o número de casos positivos para candidíase vulvovaginal encontrados nessas unidades foi de 43 (5,8%) casos. Vinte e quatro casos foram estudados nesta pesquisa. Em relação ao total de amostras analisadas, organismos do gênero *Candida* ocuparam o quarto lugar dentre todas as espécies isoladas causando infecções vulvovaginais.

Determinação dos fatores favoráveis à infecção vulvovaginal por *Candida* spp.

Com relação à idade, observou-se que das 24 pacientes analisadas, 4 (16,7%) apresentavam idade inferior ou igual a 20 anos; 12 pacientes (50%) tinham 21 a 30 anos; 5 pacientes (20,8%), 31 a 40 anos; 3 pacientes (12,5%), 41 a 50 anos.

Quanto aos sintomas investigados entre as pacientes analisadas, os mais frequentemente citados foram corrimento vaginal (70,8%) e desconforto (66,7%), seguidos por prurido nos órgãos externos (58,3%), ardência local (37,3%), disúria (25,0%), dificuldade de urinar (0,3%) e irritabilidade (0,6%).

Das vinte e quatro mulheres com candidíase, dezenove relataram sempre três ou mais sintomas associados entre si. Porém, somente três pacientes

relatarem sentir corrimento vaginal e desconforto, e uma paciente relatou ter apenas corrimento vaginal.

Conforme dados levantados pela pesquisa também foi possível observar que, 12 pacientes (50%) relataram freqüentar o médico ginecologista uma vez ao ano; 8 pacientes (33,3%) freqüentam seus ginecologistas somente quando necessário e 4 pacientes (16,7%) relataram que a consulta era feita 2 vezes ao ano.

Em relação ao número de casos com reincidência para candidíase, os resultados apontaram que 14 pacientes (58,3%) eram reincidentes, sendo 3 diabéticas.

Quando analisado o tipo de infecção e época do ano, observou-se que 10 pacientes (41,7%) apresentaram a infecção durante o verão.

Em relação ao uso de antifúngicos, observou-se que 20 pacientes (83,3%) não estavam fazendo uso. Apenas 4 pacientes (16,7%) relataram o uso desta classe medicamentosa, sendo que o medicamento era local e sistêmico e usado por período de tempo de aproximadamente 5 dias.

A entrevista também apontou que 20 pacientes (83,3%) faziam uso de anticoncepcionais.

Testes fenotípicos

De acordo com os testes fenotípicos pudemos concluir que, das 24 amostras analisadas, 11 (45,8%) foram identificadas como sendo *Candida albicans*, 9 (37,5%) como *Candida tropicalis* e 4 (16,7%) como *Candida glabrata*.

Suscetibilidade a anfotericina B

Frente a anfotericina B, 45,45% dos isolados de *Candida albicans* foram inibidos frente a concentração de 0,0625 µg/ml, 18,19% a 0,125 µg/ml e 36,36% a 0,25 µg/ml.

Para os isolados de *Candida tropicalis* observou-se que, 55,55% foram inibidos a 0,25 µg/ml, 11,11% a 0,125 µg/ml e 33,33% a 0,0625 µg/ml.

A concentração inibitória mínima para 90% das amostras de *Candida glabrata* foi de 0,0625 µg/ml.

Com relação a concentração fungicida mínima (CFM) à anfotericina B, 36,36% das amostras de *Candida albicans* mostraram-se sensíveis frente a concentração de 0,0625 µg/ml, 18,19% frente a

concentração de 0,25 µg/ml e 45,45% frente a concentração de 0,5 µg/ml. Para todas as amostras de *Candida tropicalis* isoladas observou-se uma CFM de 0,5 µg/ml, sendo que para as amostras de *Candida glabrata* a CFM foi de 0,25 µg/ml.

Concentração inibitória mínima para o fluconazol

Frente ao fluconazol, 72,7% dos isolados de *Candida albicans* foram sensíveis a concentração de 0,5 µg/ml, 9,1% a 1,0 µg/ml e 18,2% foram sensíveis a mais baixa concentração testada. Nenhuma das cepas requereu mais do que 1,0 µg/ml para ser inibida.

Nos isolados de *Candida tropicalis* observou-se que, 100% destas cepas apresentaram-se sensíveis a 0,5 µg/ml. Nenhuma das cepas precisou de uma concentração maior que 0,5 µg/ml para ser inibida. *Candida glabrata* não foi avaliada porque é naturalmente resistente a este triazólico.

Discussão

De acordo com estudos prévios a prevalência de candidíase vulvovaginal vem ocorrendo com maior freqüência em mulheres férteis com idade entre 20 e 30 anos (Sojakoya *et al*, 2003; Adad *et al*, 2001), sendo que espécies de *Candida spp.*, em especial as espécies não-*albicans* têm acometido cada vez mais mulheres nas últimas décadas (Zaitz *et al*, 1998; Thiesen *et al*, 2001).

As espécies encontradas neste estudo estão parcialmente de acordo com os estudos realizados por Buitron *et al.* (2002), que identificaram *Candida albicans* (71,91%), *Candida glabrata* (11,80%) e *Candida tropicalis* (7,87%), e Corsello *et al.* (2003), que em pesquisa realizada na Itália encontraram *Candida albicans* (77,1%) como espécie predominante. Dentre as espécies de *Candida não-albicans* isoladas neste estudo destacaram-se *Candida glabrata* (14,6%) e *Candida krusei* (4,0%).

Vários são os fatores que predispõe mulheres a infecção vulvovaginal por *Candida spp.*, destacando-se (Halbe, 1993; Prado *et al*, 1999): uso de corticóides, de antibacterianos, anticoncepcionais, gravidez, menopausa, AIDS, hemopatias, estados carenciais, hipogamaglobulinemias, diabetes entre outros.

Nossos achados apontam que das 24 mulheres

estudadas três eram diabéticas com infecção recorrente. Alguns autores sugerem que o aumento da concentração de glicogênio no conteúdo vaginal favorece a proliferação do fungo e, conseqüentemente advém a infecção (Brooks *et al.*, 2000; Donders, 2002).

Em relação ao uso de anticoncepcional nossos achados apontaram que 75% das mulheres estavam fazendo uso deste fármaco, que sendo a base de estrogênio, favorece a emergência de infecções causadas por *Candida*. Além disso, esse composto pode alterar a flora vaginal, aumentando o glicogênio da vagina, o qual servirá de nutriente importante ao crescimento do fungo e à instalação da candidíase (Samra, 2003).

De acordo com os resultados dos testes de suscetibilidade pôde-se verificar que apesar de ter sido necessária uma concentração média mais alta de anfotericina B para inibir ou matar os isolados de *Candida albicans*, todos os isolados foram considerados sensíveis às concentrações fungistáticas

e fungicidas da anfotericina B de acordo com os critérios estabelecidos pelo NCCLS. Também de acordo com os critérios estabelecidos pelo NCCLS as espécies *Candida albicans* e *Candida tropicalis* foram consideradas sensíveis às concentrações fungistáticas do fluconazol. Os resultados aqui encontrados para o fluconazol estão de acordo com os de Quindós *et al.* (1999).

Apesar dos testes de suscetibilidade terem demonstrado sensibilidade dos isolados frente a anfotericina B e fluconazol, sua execução deve ser estimulada e realizada porque permite identificar cepas resistentes, estabelecer correlações entre o estudo *in vitro* e resultados clínicos, permitindo prever a terapêutica a ser adotada (Pfaller *et al.*, 1996; Aller *et al.*, 2000).

Agradecimentos

PIIC – URI

SUMMARY

Infections caused by *Candida* are opportunistic mycosis recognized since V a.C. *Candida* is an yeast-like, opportunistic and saprophyte fungi, that becomes pathogenic by multiplications under determinates conditions. *Candida* cells are recovered in 20% from asymptomatic healthy woman vagina. Candidíasis occurs mainly in woman between puberty and menopause, suggesting hormonal environment to infections development. Between August and June of 2004 samples were collected from woman with suspect of vulvovaginal candidiasis assisted in three healthy center from Frederico Westphalen – RS – Brazil. Positive samples were identified and the susceptibility was evaluated to antifungal agents fuconazole and amphotericin B. *Candida albicans* was the most frequently isolated species. Susceptibility tests to amphotericin B have shown that *Candida glabrata* isolates were more sensible than *C. albicans* and *C. tropicalis*. According to NCCLS documents, all the isolates were classified as susceptible to amphotericin B and fluconazole.

Key-Words: *Candida*, vulvovaginal candidiasis, antifungal agents

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bodey GP. Candidiasis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. New York: Raven Press. Ltda, 1992.
2. Prado FC, Ramos J, Valle JR. Manual Prático de Diagnóstico e Tratamento. São Paulo: Artes Médicas, 19ª edição, 1999.
3. Val ICC, Filho GLA. Editorial – Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal. Instituto de Ginecologia da UFRJ. DST – Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis. 2001; 13(4):3-5.
4. Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999.

5. Reynolds R, Braude AI. The filament-inducing property of blood for *Candida albicans*; its nature and significance. Clin. Res. Proc. 1956; 4:40.
6. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast: approved standard. [NCCLS Document M27-A2]. 2002.
7. Sojakova M, Liptajova D, Simoncicova M, Borovsky M, Subik J. Vulvovaginal candidiasis and sensitivity of pathogens to antimycotics. Ceska Gynekol. 2003; 68:24-29.
8. Adad SJ, Lima RV, Sawan ZTE, Silva MLG, Souza MAH, Saldanha JC, et al. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida spp.* and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. São Paulo Medical Journal. 2001; 119:6.
9. Zaitz C, Campbell I, Marques AS, Ruiz LRB, Souza VM. Compêndio de Micologia Médica. Rio de Janeiro: Medsi, 1998.
10. Thiesen K, Silva AS, Filipinni CAF, Ropelatto C, Bianchini E, Haas P. Avaliação do Diagnóstico Citológico Cérvico-Vaginal na Policlínica de Referência Regional I de Florianópolis. Revista Laes & Haes. 2001; 132:190-201.
11. Buitron GR, Romero CR, Cruz TF, Bonifaz A, Zarama MF. Study on *Candida non-albicans* species and its relation to recurrent vulvovaginal candidiasis. Ginecol. Obstet. 2002; 70:431-6.
12. Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, Penna C, Guaschino S, Beltrame A, et al. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. J. Obstet. Gynecol. Reprod. 2003; 110:66-72.
13. Halbe HW. Tratado de Ginecologia. São Paulo: Editora Roca Ltda, 1993: cap. 91.
14. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiologia Médica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 21^a edição, 2000.
15. Donders GG. Lower Genital Tract Infections in Diabetic Women. Curr. Infect. Dis. Rep. 2002; 4:536-9.
16. Samra OM. Vulvovaginitis. BMJ. 2003; 326:993-4.
17. Quindós G, Abarca L, Carrillo-Muñoz AJ, Arévalo MP, Bornay FJ, Casals JB, et al. Multicenter survey of *in vitro* antifungal resistance in yeast of medical importance isolated from Spanish patients. Rev. Iberoam. Micol. 1999; 16:97-100.
18. Pfaller MA, Rex JH, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing: technical advances and potential clinical applications. Acta. Infect. Dis. 1996; 24:776-84.
19. Aller AI, Martin-Mazuelos E, Lozano F. Correlation of fluconazol MICs with clinical outcome in cryptococcal infection. Antimicrob. Agents. Chemother. 2000; 44:1544-8.

Endereço para correspondência:

Carlos Eduardo Blanco Linares
Ciências da Saúde
Rua Assis Brasil 788, URI – FW
97400-000, Frederico Westphalen, RS, Brasil
e-mail: clinares@fw.uri.br