



## Espécies de *Candida* causadoras de vulvovaginites e resistência aos antifúngicos utilizados no tratamento

### *Candida species cause vulvovaginitis and resistance to antifungals used for treatment*

Diogo Luan de Oliveira<sup>1</sup>, Juliana Cristina Schmidt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Farmacêutico. Pós-graduado em Análises Clínicas. Área de Ciências da Saúde. Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó (SC), Brasil; <sup>2</sup> Doutora em Biologia Celular e Molecular (UFPR). Professora da Área de Ciências da Saúde e da Pós-graduação em Diagnóstico Clínico Laboratorial e Farmacologia da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó (SC), Brasil.

\*Autor correspondente: Juliana Cristina Schmidt - E-mail: jcs@unochapeco.edu.br

#### RESUMO

Neste estudo foram identificadas espécies de *Candida* em isolados de secreção vaginal, avaliados os perfis de suscetibilidade *in vitro* a antifúngicos e correlacionados com os antifúngicos prescritos para pacientes em um serviço de atenção primária. A identificação das espécies pela Reação em Cadeia da Polimerase mostrou que 36,5% dos isolados foram caracterizados como espécie não-*C.albicans*. Nos testes de sensibilidade a maioria dos isolados foi suscetível a cetoconazol, fluconazol e itraconazol, contudo cerca de 40% e 50% apresentaram resistência ou sensibilidade dose-dependente a miconazol e nistatina, respectivamente. A análise dos fármacos prescritos para as pacientes revelou que 34,2% dos isolados foram considerados resistentes aos agentes utilizados no tratamento. Diversas espécies de *Candida* podem causar vulvovaginite com variados perfis de suscetibilidade aos antifúngicos comumente utilizados no tratamento. A identificação das espécies de *Candida* é relevante para o gerenciamento epidemiológico das infecções, além de ser útil, assim como os testes de suscetibilidade, na escolha do tratamento farmacológico mais eficaz para a paciente.

**Palavras-chave:** *Candida spp.* Candidíase vulvovaginal. Reação em cadeia da polimerase. Testes de sensibilidade microbiana.

#### ABSTRACT

In this study were identified *Candida* species from vaginal secretion isolates, evaluated their *in vitro* antifungal susceptibilities, and correlated these features with antifungal agents prescribed for patients assisted in a primary care service. Species identification by Polymerase Chain Reaction showed that 36.5% of isolates were characterized as non-*C. albicans* species. In antifungal susceptibility tests most isolates were susceptible to ketoconazole, fluconazole, and itraconazole, although between 40% and 50% of isolates show resistance or dose-dependent susceptibility to miconazole and nystatin, respectively. Analysis of drugs prescribed to patients revealed that 34.2% of the isolates were considered resistant to agents used in treatment. Several *Candida* species can cause vulvovaginitis and exhibit different susceptibility profiles to antifungal drugs used in treatment. The identification of *Candida* species is relevant and useful to the epidemiological management of infections. The antifungal susceptibility test may also be useful for choosing most effective drug treatment for each patient.

**Keywords:** *Candida spp.* Microbial sensitivity tests. Polymerase chain reaction. Vulvovaginal candidiasis.

Recebido em Dezembro 13, 2019

Aceito em Dezembro 22, 2020

## INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é um problema de saúde significativo, afeta quase dois terços das mulheres adultas durante a vida, entre elas aproximadamente 50% experimentam novos episódios<sup>1, 2</sup>. O crescimento anormal de leveduras *Candida* na mucosa do trato genital feminino, causa prurido, eritema, edema e corrimento vaginal<sup>1</sup>. Embora essa levedura seja considerada um membro da microbiota vaginal, algumas condições podem perturbar o equilíbrio microbiano no trato genital e levar ao crescimento excessivo de espécies de *Candida*. Condições como Diabetes mellitus<sup>3</sup>, uso de contraceptivos orais e gravidez<sup>4</sup> elevam os níveis de glicogênio na mucosa vaginal e a consequente queda do pH favorece o desenvolvimento de infecção local. O excesso de glicogênio aumenta o substrato nutritivo e promove o aumento da capacidade de adesão do patógeno<sup>5</sup>. Outros fatores de risco para o desenvolvimento de CVV incluem a prática inadequada de higiene genital e o uso de antibióticos, corticosteróides, roupas justas e roupas íntimas de tecido sintético<sup>6</sup>.

Estudos de prevalência de CVV indicam que *Candida albicans* é a espécie isolada mais frequente, responde por 80 a 90% de todos os casos de CVV<sup>1, 7</sup>. No entanto, há aumento de episódios com espécies não-*C. albicans*, com patogenicidade e perfil de suscetibilidade antifúngica variável.<sup>1,8,9</sup>. Essas espécies

não-*C. albicans* causadoras de CVV incluem *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*, e indicam uma tendência para uma mudança na etiologia da candidíase após décadas de dominância de *C. albicans*<sup>3,8,10</sup>. O tratamento farmacológico de pacientes com CVV não complicada envolve o uso de agentes antifúngicos imidazóis e triazóis, incluindo fluconazol, cetoconazol, miconazol, itraconazol e clotrimazol, além do agente poliêniconistatina. Esses medicamentos são eficazes no controle da candidíase, a partir da síntese de ergosterol na membrana celular do fungo<sup>7,10</sup>. No entanto, o aumento do uso de antifúngicos e o tratamento prolongado sem supervisão médica são fatores de risco para o surgimento de espécies de *Candida* resistentes aos fármacos mencionados<sup>1,11</sup>.

Com o aumento da diversidade de espécies de *Candida* relacionadas a episódios de CVV e seus diversos perfis de suscetibilidade antifúngica, neste estudo identificamos, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) espécie-específica, a distribuição das espécies de *Candida* nas secreções vaginais de mulheres encaminhadas a um serviço público de saúde no sul do Brasil. Além disso, verificamos o perfil de suscetibilidade *in vitro* de isolados vaginais aos antifúngicos geralmente utilizados no tratamento de CVVs, tendo em vista os fatores de risco e as prescrições medicamentosas das pacientes.

## METODOLOGIA

### POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM

O estudo transversal foi realizado com 180 pacientes atendidas no Laboratório Municipal de Análises Clínicas e Ambientais, Chapecó, SC, Brasil, no período de fevereiro a abril de 2012. A amostra foi obtida por demanda espontânea de pacientes, encaminhadas por médicos ou enfermeiras, das unidades de atendimento da atenção básica, para envio de exames laboratoriais de conteúdo vaginal. Todas as participantes foram informadas sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram excluídas do estudo as pacientes com menos de 18 anos, não residentes no município e/ou quando elas utilizassem algum antimicrobiano.

### AMOSTRAS BIOLÓGICAS E COLETA DE DADOS

As informações foram obtidas por meio de um questionário que incluía perguntas abertas e fechadas, cobrindo aspectos sociodemográficos, clínicos e epidemiológicos e fatores de risco para CVV, como o método anticoncepcional, gravidez, prática de higiene pós-defecação e uso de roupas justas/roupas íntimas sintéticas.

O fluido vaginal foi coletado com swab, imediatamente incubado em solução de transporte Stuart (Citotest Labware Manufacturing Co., Ltd., Haimen City,

China) e enviado ao laboratório. Os isolados foram semeados em ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, Mich, EUA) suplementado com cloranfenicol e incubados a 35 °C por 48 horas.

### IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS ESPÉCIES DE *Candida* por PCR

O DNA genômico foi extraído das culturas de acordo com o procedimento descrito por Alves (2010), a partir de cepas ATCC das espécies de *Candida*: *C. glabrata* (ATCC 2001), *C. krusei* (ATCC 6258), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. parapsilosis* (ATCC 90018), *C. albicans* (ATCC 24433) e *C. guilliermondii* (ATCC 90877).

A identificação das espécies *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* foi realizada por PCR com iniciadores espécie-específicos para o espaçador transcrito interno (ITS) 1 e 2 e o iniciador reverso ITS4 da seguinte forma: ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'), CAL (*C. albicans*, 5'-TCAACT TGTCACACCAGATTATT-3')<sup>12</sup>, CGL (*C. glabrata*, 5'-CAC GAC GCT ACA CTT TCT AAT T-3')<sup>13</sup>, CTR (*C. tropicalis*, 5'-CAATCCTACCGCCAGAGGTTAT-3')<sup>12</sup>, CKR (*C. krusei*, 5'-ACTACTGCGTGAGCGG AA-3')<sup>14</sup>, CPA (*C. parapsilosis*, 5'-TTG GTA GGC CTT CTA TAT GGG-3')<sup>14</sup> e CGU (*C. guilliermondii*, 5'-GTATTGGCATGGGTAGTACTG-3')<sup>12</sup>. Os ensaios de PCR geraram produtos de amplificação de 402 pb para *C. albicans*,

632 pb para *C. glabrata*, 434 pb para *C. tropicalis*, 464 pb para *C. krusei*, 424 pb para *C. parapsilosis* e 185 pb para *C. guilliermondii*. As reações de PCR foram preparadas em um volume de 20 µL contendo 20 ng de DNA genômico, dNTPs 0,2 mM, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, 10 pmol de cada iniciador, 2,0 µL de tampão de reação 10x e 1,0 U de Taq Platinum DNA polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). Os controles positivos consistiram de DNA genômico extraído de cepas ATCC de espécies de *Candida* identificadas neste trabalho. Os controles negativos foram preparados substituindo o DNA por água e por DNA de espécies diferentes dos primers específicos da espécie usados na reação. As misturas de reação foram incubadas em termociclador MJ-96 (Biocycler, Applied Biosystems, Foster City, EUA) a 94 °C por 4 min, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 56 °C por 1 min (anelamento), 72 °C por 1 minuto e uma extensão final a 72 °C por 5 min. A temperatura de anelamento usada para *C. parapsilosis* e *C. albicans* foi 60 °C. Os fragmentos de DNA amplificados foram analisados em gel de agarose a 2% corado com 0,5 µg / mL de brometo de etídio e visualizados em sistema de documentação

UV (VilberLoumart, Marne-LaVallée, França).

#### AValiação DA SUSCETIBILIDADE IN VITRO A AGENTES ANTIFÚNGICOS

A suscetibilidade antifúngica dos isolados de *Candida* spp. foi testada pelo método de difusão em disco em Ágar Muller Hinton, de acordo com o documento M44-A<sup>15</sup> e as instruções do fabricante. Os testes de suscetibilidade foram realizados com discos de nistatina (100 UI), fluconazol (50 mg), miconazol (50 mg) e cetoconazol (50 mg), adquiridos da Bio-Rad Laboratories (Marnes La Coquette, França) e itraconazol (10 mg), obtido do Centro de Produtos de Diagnóstico e Controle, São Paulo, Brasil, CECON. Os parâmetros de resistência, suscetibilidade e suscetibilidade dose-dependente foram definidos medindo-se a zona de inibição em torno dos discos. Os critérios utilizados para interpretação dos dados obtidos para o fluconazol foram os propostos pelo CLSI, enquanto para os demais antifúngicos, para os quais não havia métodos padronizados, foram empregados os critérios sugeridos pelos fabricantes conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1.** Critério para interpretação dos resultados de antifungograma de acordo com o manual M44-A e os manuais dos fabricantes dos discos (Cecon, Bio-Rad Laboratories)

Antifúngico	Suscetível	Suscetível dose-dependente	Resistente
Fluconazol (*)	>19 mm	14-19 mm	<14 mm
Cetoconazol (***)	>20 mm	10-20 mm	<10 mm
Itraconazol (**)	≥20 mm	12-19 mm	≤11 mm
Miconazol (***)	>20 mm	10-20 mm	<10 mm
Nistatina (**)	>10 mm	----	≤10 mm

(\*) MA44-A; (\*\*) Cecon; (\*\*\*) Bio Rad

## ANÁLISE DA PRESCRIÇÃO DE MEDICAMENTOS

As informações sobre os antifúngicos prescritos às pacientes deste estudo foram obtidas no banco de dados do programa Winsaúde. A coleta foi autorizada pela paciente e pelo Serviço Municipal de Saúde.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações obtidas a partir do questionário estruturado foram analisadas usando Epi-info 3.5.2 (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, EUA), e a magnitude da associação entre as variáveis e a presença de CVV estimada pelo *odds ratio* (OR) com intervalo de confiança (IC) de 95%. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (protocolo n ° 140/11).

## RESULTADOS

### CARACTERÍSTICAS SÓCIODEMOGRÁFICAS, FATORES DE RISCO E SINTOMATOLOGIA DAS PACIENTES

Das 180 amostras de secreções vaginais obtidas, 52 (28,9%) apresentaram crescimento de levedura no meio de cultura seletivo e, portanto, foram utilizadas em análises posteriores. Essas 52 amostras vieram de mulheres entre 18 e 52 anos, com idade modal e média de 18 e 27, 25 anos, respectivamente. O nível de escolaridade da maioria das mulheres era de primeira série e mais de sessenta por cento delas eram casadas ou coabitavam.

Houve correlações significativas entre a presença de *Candida* spp. na cultura vaginal e vários fatores de risco (Tabela 2), incluindo gravidez, idade reprodutiva, práticas inadequadas de higiene pós-defecação e uso de roupas justas/roupas íntimas sintéticas ( $p < 0,05$ ). No entanto, não foi observada correlação com o uso de anticoncepcionais orais e práticas de lavagem pós-defecação.

**Tabela 2.** Distribuição das pacientes com cultura positiva (n = 52) e relação com os fatores de risco analisados

Fator de risco	Categoria	n	%	OR*	CI**	Valor de p
Gravidez	Sim	18	34,6	1,98	0,97 - 4,03	0,04
	Não	34	65,4			
Uso de contraceptivos orais	Sim	22	42,3	1,44	0,74 - 2,8	0,17
	Não	30	57,7			
Idade reprodutiva	Sim	50	96,2	3,31	0,73 - 9,78	0,03
	Não	2	3,8			
Uso de roupas justas/roupas íntimas sintéticas	Sim	41	78,8	2,45	0,95 - 6,28	0,04
	Não	11	21,2			
Prática de higiene pós-defecação	Ânus-Vagina	18	34,4	1,87	0,94 - 3,72	0,04
	Vagina-Ânus	34	65,4			
Prática de lavagem pós-defecação	Sim	19	36,5	1,25	0,63 - 2,44	0,31
	Não	33	63,5			

\*OR: *odds ratio*

\*\*CI: interval de confiança

Os sintomas clínicos prevalentes entre as pacientes foram leucorreia (71,2%), seguido de prurido (55,8%), dispareunia (25,0%), disúria (23,1%), eritema (23,1%) e edema (7,7%). A ocorrência de corrimento vaginal e prurido foram associados a resultados positivos de cultura ( $p < 0,05$ ), e as pacientes que relataram esses sintomas apresentaram 3,08 e 2,46, respectivamente, maior risco de apresentar CVV. Ressalta-se, entretanto, que a presença de sinais e sintomas foi relatada pelas pacientes e diferenças podem surgir se o exame clínico for realizado por um profissional.

#### DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Candida* DOS ISOLADOS VAGINAIS

A identificação de espécies de *Candida* realizada por PCR espécie-

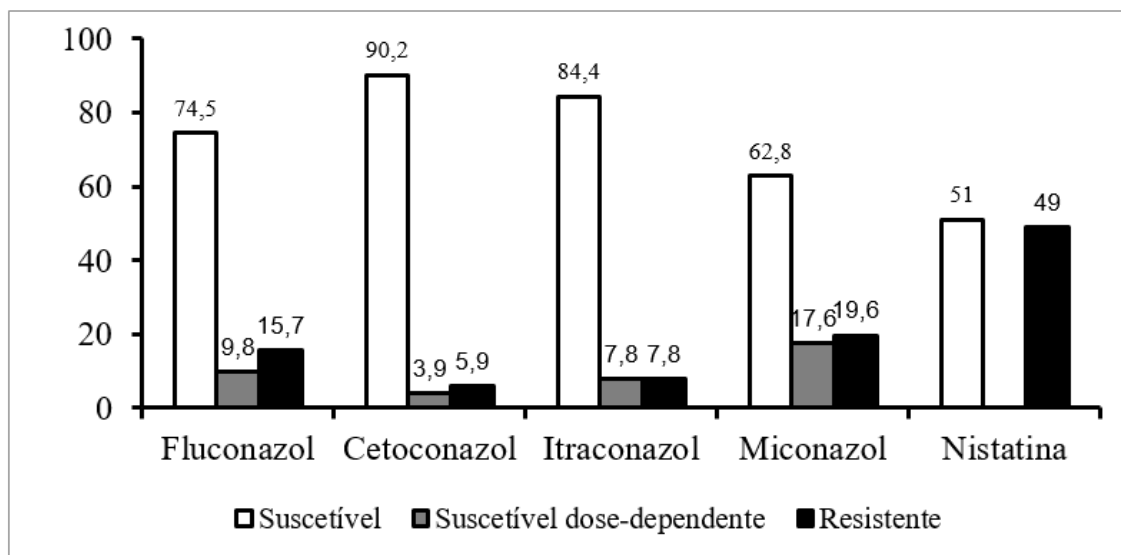
específica encontrou *C. albicans* em 63,5% (33/52) dos isolados e as espécies não-*C. albicans* foram distribuídas da seguinte forma: 13,5% *C. glabrata* (7/52), 7,7% *C. tropicalis* (4/52), 7,7% *C. parapsilosis* (4/52), 5,7% *C. krusei* (3/52) e 1,9% de *C. guilliermondii* (1/52). Apenas uma amostra vaginal apresentou resultado positivo para mais de uma espécie, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Devido à impossibilidade de avaliar individualmente cada espécie, a amostra não foi analisada nos testes de suscetibilidade.

#### SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro*

Entre os antifúngicos analisados, observou-se que a maioria dos isolados de *Candida* foram sensíveis ao cetoconazol e mais de 70% apresentaram suscetibilidade

ao fluconazol, itraconazol e miconazol (Figura 1). No entanto, foi verificado nos testes *in vitro* de miconazol e nistatina que

37% e cerca de metade dos isolados, respectivamente, apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente.



**Figura 1.** Perfil de suscetibilidade de isolados de *Candida* spp. aos agentes antifúngicos. As amostras foram analisadas pelo método de difusão em disco CLSI M44-A e classificadas como suscetível (S), suscetível dose-dependente (SDD) ou resistente (R) para cada antifúngico testado.

A porcentagem de isolados de espécies de *Candida* suscetíveis (S), suscetíveis dose-dependente (SDD) ou resistente (R), em comparação com os agentes antifúngicos testados é mostrada na Tabela 3. A maioria das espécies de *C. albicans* foram suscetíveis a fármacos azólicos, como segue: cetoconazol (94%), itraconazol (91%), fluconazol (84,8%) e miconazol (72,8%). Metade dos isolados caracterizados como *C. krusei* apresentaram resistência ao cetoconazol, itraconazol e miconazol, e todos os

isolados de *C. krusei* foram resistentes ao fluconazol e nistatina. Considerando todos os antifúngicos testados, os isolados apresentaram a maior resistência à nistatina, sendo: *C. krusei* (100%), *C. guilliermondii* (100%), *C. tropicalis* (66,7%), *C. parapsilosis* (50,0%), *C. albicans* (45,5%) e *C. glabrata* (28,6%). Vários isolados também foram resistentes ao miconazol: *C. tropicalis* (66,7%), *C. krusei* (50%), *C. parapsilosis* (25%), *C. albicans* (15,1%) e *C. glabrata* (14,3%).

**Tabela 3.** Suscetibilidade *in vitro* de espécies de *Candida* aos agentes antifúngicos

Espécies de <i>Candida</i>	Agente antifúngico	Perfil de suscetibilidade <i>in vitro</i> *		
		S (%)	SDD (%)	R (%)
<i>Candida albicans</i> (n=33)	Fluconazol	84,8	9,1	6,1
	Cetoconazol	94,0	3,0	3,0
	Itraconazol	91,0	3,0	6,0
	Miconazol	72,8	12,1	15,1
	Nistatina	54,5	-	45,5
<i>Candida tropicalis</i> (n=3)	Fluconazol	66,7	-	33,3
	Cetoconazol	100,0	-	-
	Itraconazol	66,7	33,3	-
	Miconazol	33,3	-	66,7
	Nistatina	33,3	-	66,7
<i>Candida glabrata</i> (n=7)	Fluconazol	57,1	14,3	28,6
	Cetoconazol	71,4	14,3	14,3
	Itraconazol	71,4	14,3	14,3
	Miconazol	57,1	28,6	14,3
	Nistatina	71,4	-	28,6
<i>Candida krusei</i> (n=2)	Fluconazol	-	-	100,0
	Cetoconazol	50,0	-	50,0
	Itraconazol	-	50,0	50,0
	Miconazol	-	50,0	50,0
	Nistatina	-	-	100,0
<i>Candida parapsilosis</i> (n=4)	Fluconazol	100,0	-	-
	Cetoconazol	100,0	-	-
	Itraconazol	100,0	-	-
	Miconazol	50,0	25,0	25,0
	Nistatina	50,0	-	50,0
<i>Candida guilliermondii</i> (n=1)	Fluconazol	-	100,0	-
	Cetoconazol	100,0	-	-
	Itraconazol	100,0	-	-
	Miconazol	-	100,0	-
	Nistatina	-	-	100,0

\* S: suscetível; SDD: suscetível dose-dependente; R: resistente



## CORRELAÇÃO ENTRE O PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA DOS ISOLADOS E A PRESCRIÇÃO DE MEDICAMENTOS ÀS PACIENTES

Das 52 pacientes avaliadas neste estudo, apenas 41 (78,8%) haviam recebido medicação para tratamento da vulvovaginite e, destas, 6 pacientes (14,6%) receberam terapia combinada, ou seja, um medicamento para uso oral acompanhado de um creme vaginal tópico. Revendo as prescrições de medicamentos, constatou-se que o antifúngico mais prescrito foi o fluconazol (46,3%), seguido da nistatina (29,3%), itraconazol (21,9%), miconazol (12,2%) e cetoconazol (4,9%). Das 35 pacientes que receberam um único antifúngico para o tratamento de CVV, 60,0% (21/35) apresentaram isolados de *Candida* suscetíveis ao medicamento prescrito, enquanto 2,9% (1/35) foram classificados como suscetíveis dependentes de dose e 37,1% (13/35) dos isolados das pacientes foram considerados resistentes. As pacientes que receberam terapia combinada (n = 6), 83,3% (5/6) apresentaram isolados de *Candida* suscetíveis aos dois medicamentos prescritos, enquanto 16,7% (1/6) das pacientes apresentaram isolados resistentes aos dois medicamentos. Em ambos os grupos observou-se que 34,2% (14/41) dos isolados das pacientes eram resistentes ao medicamento prescrito na rede básica de saúde.

## DISCUSSÃO

Aproximadamente três quartos das mulheres em idade reprodutiva sofrem de CVV com significativa morbidade física e psicológica.<sup>1, 4</sup>. Neste estudo, a frequência de isolados vaginais de *Candida* spp. (28,9%) foi próxima a encontrada em outros estudos<sup>16, 17</sup>, que reportaram frequências desta levedura em 33,2 e 24,7% dos isolados, respectivamente.

A avaliação dos fatores de risco indicou relação entre CVV, gravidez e idade reprodutiva das pacientes, o que pode ser explicado pelo maior nível de hormônios sexuais nessas fases da vida e os níveis mais elevados de glicogênio na mucosa vaginal facilita a colonização e germinação fúngica<sup>4, 18</sup>. Em relação aos hábitos das pacientes, a pesquisa revelou que mais de 70% dos isolados com *Candida* spp. eram de pacientes com hábito de usar roupas justas e / ou roupas íntimas de tecido sintético. Essas escolhas podem resultar em má aeração do órgão genital e aumento da umidade vaginal, contribuindo assim para o crescimento de fungos. Além disso, hábitos de higiene inadequados também são fatores relacionados aos episódios de CVV, pois podem levar resíduos de fezes próximo à vagina<sup>6</sup>.

Dentre as espécies identificadas neste estudo, constatou-se que *C. albicans* continua sendo a espécie mais frequentemente isolada, conforme observado em outros estudos<sup>7, 11, 16, 17</sup>. No

entanto, deve-se notar que espécies não-*C. albicans* foram encontradas em aproximadamente 35% das amostras, sugerindo aumento na prevalência dessas espécies, como também fora demonstrado por Bitew et al.<sup>8</sup>. Especula-se que o aumento de espécies não-*C. albicans* pode ser um reflexo da ampliação do cultivo e da identificação, realizados antes mesmo de serem solicitados pelo profissional médico<sup>16</sup>. No entanto, vários estudos têm proposto a possibilidade de uso errôneo, inadequado ou incompleto de antifúngicos, o que permitiria a eliminação das espécies mais sensíveis de *C. albicans*, enquanto promulgaria as mais resistentes espécies não-*C. albicans*<sup>1</sup>.

O problema com o aumento da incidência de espécies não-*C. albicans* é que essas espécies apresentam resistência aos medicamentos mais utilizados, dificultando o controle da infecção nas pacientes. Isolados de *C. glabrata* e *C. tropicalis* são frequentemente resistentes a fármacos azólicos ou requerem doses maiores para permitir o sucesso terapêutico<sup>10, 19</sup>. A avaliação da suscetibilidade antifúngica neste trabalho revelou que o isolado de *C. guilliermondii* foi resistente à nistatina, enquanto todos os isolados de *C. krusei* foram resistentes ao fluconazol e à nistatina. A resistência de *C. krusei* ao fluconazol já é conhecida, embora o mecanismo preciso não seja completamente compreendido<sup>10</sup>. No entanto, um resultado diferente em relação ao antifúngico nistatina foi relatado<sup>20</sup> em que todos os isolados analisados de *C.*

*krusei* mostraram suscetibilidade ou suscetibilidade dependente da dose.

Nosso estudo observou que, entre os fármacos azólicos, o miconazol apresentou os piores resultados com suscetibilidade *in vitro* observada em apenas 62,8% (32/51) dos isolados de *Candida*. As taxas de suscetibilidade intermediária (9,8%) e resistência (15,7%) ao fluconazol também foram relativamente maiores. Um perfil de suscetibilidade semelhante foi relatado para 17,2% das amostras de 87 isolados vulvovaginais de *Candida*<sup>8</sup>. Contudo, outros estudos observaram resistência ao fluconazol em menos de 10% dos isolados analisados<sup>7, 21-23</sup>.

Vale ressaltar os resultados que indicam a eficácia da nistatina contra as espécies mais prevalentes de *Candida*, por ser uma das principais opções para o tratamento da CVV. A nistatina é amplamente utilizada a baixo custo em formulações tópicas de fácil acesso à população-alvo. Dentre todos os medicamentos incluídos na pesquisa, o antifúngico poliênico apresentou o pior desempenho com 49,0% (23/51) dos isolados resistentes a esse medicamento. A baixa incidência de leveduras sensíveis à nistatina também foi relatada<sup>24</sup>, e encontrou 51,1% dos isolados com suscetibilidade dose-dependente à nistatina. Em contraste, Liu e Fan<sup>7</sup> descreveram suscetibilidade a todos os isolados de *C. albicans* para esse antifúngico.

Ao serem comparados os resultados do teste de suscetibilidade *in vitro* e os antifúngicos prescritos às pacientes, constatou-se que 34,2% (14/41) das pacientes apresentavam isolados resistentes aos medicamentos prescritos para o tratamento, o que sugere que o medicamento selecionado não foi capaz de controlar a infecção. Deve-se observar que os resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* nem sempre refletem com precisão as ocorrências *in vivo* devido à variação fisiológica de cada indivíduo, às características dos medicamentos e ao comportamento variável dos microrganismos em cada indivíduo. Outra limitação deste estudo foi a amostra analisada de pacientes em um único serviço de saúde que, somada ao tamanho da amostra, limita a generalização dos resultados. Além disso, o maior tempo de seguimento das pacientes e o acesso aos dados clínicos permitiriam melhor avaliação do sucesso ou não da terapia antifúngica. No entanto, estudos como este contribuem para o entendimento da farmacoepidemiologia, pois altos valores de resistência e suscetibilidade dose-dependente podem indicar a necessidade de ajustes na posologia ou no medicamento prescrito para o tratamento da candidíase em algumas pacientes.

## CONCLUSÃO

Em geral, para todas as espécies de *Candida* identificadas, as taxas de resistência encontradas foram superiores às

relatadas por outros autores, o que indica a necessidade de realização de testes de sensibilidade aos antifúngicos previamente à prescrição dos medicamentos. Isso pode contribuir para a redução de casos recorrentes de CVV provocados por exposição repetida aos medicamentos.

Esses resultados reforçam a importância de avaliar a suscetibilidade das infecções vaginais por *Candida* aos antifúngicos, principalmente nos casos de CVV de repetição, uma vez que o uso de alguns medicamentos no tratamento de infecções anteriores pode contribuir para a seleção de cepas de *Candida* resistentes. Além disso, a identificação das espécies de *Candida* causadoras da infecção também pode auxiliar na seleção do fármaco mais eficaz, uma vez que algumas espécies podem apresentar resistência intrínseca a alguns grupos de antimicrobianos, conforme descrito anteriormente em alguns estudos e também demonstrado neste trabalho. Assim, seria possível melhorar o manejo da farmacoterapia antifúngica do paciente, evitando a recorrência da vulvovaginite.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos profissionais do Departamento de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por gentilmente cederem cepas ATCC de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. Os autores também agradecem aos responsáveis pelo

Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Santa Maria, por gentilmente cederem cepa ATCC de *C. albicans* e aos pesquisadores do Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, por gentilmente cederem cepa ATCC de *C. guilliermondii*.

## REFERÊNCIAS

1. Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(1):15-21.
2. Foxman B, Muraglia R, Dietz JP, Sobel JD, Wagner J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17(3):340-5.
3. Gunther LS, Martins HP, Gimenes F, Abreu AL, Consolaro ME, Svidzinski TI. Prevalence of *Candida albicans* and non-*albicans* isolates from vaginal secretions: comparative evaluation of colonization, vaginal candidiasis and recurrent vaginal candidiasis in diabetic and non-diabetic women. *Sao Paulo Med J.* 2014;132(2):116-20.
4. Aguin TJ, Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Curr Infect Dis Rep.* 2015;17(6):462.
5. Hofs S, Mogavero S, Hube B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *J Microbiol.* 2016;54(3):149-69.
6. Goncalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(6):905-27.
7. Liu XP, Fan SR, Peng YT, Zhang HP. Species distribution and susceptibility of *Candida* isolates from patient with vulvovaginal candidiasis in Southern China from 2003 to 2012. *J Mycol Med.* 2014;24(2):106-11.
8. Bitew A, Abebaw Y. Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. *BMC women's health.* 2018;18(1):94.
9. Makanjuola O, Bongomin F, Fayemiwo SA: An Update on the Roles of Non-*albicans* *Candida* Species in Vulvovaginitis, *J Fungi.* 2018; 4(4):121.
10. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans* *Candida* Species. *Front Microbiol.* 2016;7:2173.
11. Dias LB, Melhem MdSC, Szesz MW, Meirelles Filho J, Hahn RC. Vulvovaginal candidiasis in Mato Grosso, Brazil: pregnancy status, causative species and drugstests. *Braz J of Microbiol.* 2011;42(4):1300-7.
12. Li Y, Leaw S, Chen J-H, Chang H, Chang T-C. Rapid identification of yeasts commonly found in positive blood cultures by amplification of the internal transcribed spacer regions 1 and 2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22(11):693-6.
13. Bougnoux M-E, Dupont C, Mateo J, Saulnier P, Faivre V, Payen D, et al. Serum is more suitable than whole blood for diagnosis of systemic candidiasis by nested PCR. *J Clin Microbiol.* 1999;37(4):925-30.
14. Luo G, Mitchell TG. Rapid identification of pathogenic fungi directly from cultures by using

- multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2002;40(8):2860-5.
15. CLSI. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved standard, M44-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2004.
16. Andrioli JL, Oliveira GSA, Barreto CS, Sousa ZL, Oliveira MCHd, Cazorla IM, et al. Frequência de leveduras em fluido vaginal de mulheres com e sem suspeita clínica de candidíase vulvovaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009;31:300-4.
17. Mtibaa L, Fakhfakh N, Kallel A, Belhadj S, Belhaj Salah N, Bada N, et al. Vulvovaginal candidiasis: Etiology, symptomatology and risk factors. *J Mycol Med.* 2017;27(2):153-8.
18. Chatzivasileiou P, Vyzantiadis TA. Vaginal yeast colonisation: from a potential harmless condition to clinical implications and management approaches-A literature review. *Mycoses.* 2019;62(8):638-50.
19. Hii IM, Liu CE, Lee YL, Liu WL, Wu PF, Hsieh MH, et al. Resistance rates of non-albicans *Candida* infections in Taiwan after their revision of 2012 Clinical and Laboratory Standards Institute breakpoints. *Infect Drug Resist.* 2019;12:235-40.
20. Dota D, Fátima K, Shinobu CS, Patussi EV, Lopes Consolaro ME, Estivalet Svidzinski TI. Susceptibilidad de levaduras vaginales a los antifúngicos más utilizados en Maringá, Paraná, Brasil. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2008;42(4):561-6.
21. Gamarra S, Morano S, Dudiuk C, Mancilla E, Nardin ME, de Los Angeles Mendez E, et al. Epidemiology and antifungal susceptibilities of yeasts causing vulvovaginitis in a teaching hospital. *Mycopathologia.* 2014;178(3-4):251-8.
22. Zhang JY, Liu JH, Liu FD, Xia YH, Wang J, Liu X, et al. Vulvovaginal candidiasis: species distribution, fluconazole resistance and drug efflux pump gene overexpression. *Mycoses.* 2014;57(10):584-91.
23. Maraki S, Mavromanolaki VE, Stafylaki D, Nioti E, Hamilos G, Kasimati A. Epidemiology and antifungal susceptibility patterns of *Candida* isolates from Greek women with vulvovaginal candidiasis. *Mycoses.* 2019;62(8):692-7.
24. Ferrazza M, Maluf MLF, Consolaro MEL, Shinobu CS, Svidzinski TIE, Batista MR. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(2):58-63.