

Isolamento de *Candida sp.* da Mucosa Vaginal de Mulheres Atendidas em um Serviço de Ginecologia do Município de Santo Ângelo - RS

Fernanda Pês de Camargo¹, Izabel Almeida Alves¹, Michelle S. Parlow¹, Letícia Silveira Goulart²

1 - Graduandas do Curso de Farmácia Bioquímica Clínica, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI

2 - Professora Mestre das Disciplinas de Bacteriologia Clínica I e II e Micologia Clínica do Curso de Farmácia, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e Das Missões – URI

Resumo

Introdução: Entre as vulvovaginites, a candidíase é apontada como a causa mais freqüente em mulheres na idade fértil. Atualmente, várias pesquisas mostram o aumento na freqüência das espécies não-albicans e grande preocupação com episódios de repetição. A espécie de *Candida* encontrada com maior freqüência é a *Candida albicans*, mas outras espécies como *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* e *Candida krusei*, também tem sido isoladas. **Objetivo:** A proposta deste estudo foi determinar a freqüência de colonização vaginal por *Candida sp.*, identificar as espécies isoladas e determinar os níveis relativos de proteinase e fosfolipase. **Material e Método:** As amostras coletadas foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose. Após crescimento, as cepas foram isoladas e identificadas através de microcultivo. **Resultados:** Das 88 amostras coletadas, 18,18 % foram positivas para *Candida sp.* E, destas, 81,25 % para *Candida albicans*, seguidas por *C. tropicalis* (6,25 %), *C. glabrata* (6,25 %) e *C. krusei* (6,25 %). A avaliação da atividade enzimática demonstrou que 58,25 % das colônias de *Candida sp.* produziram proteinase e 68,75 % fosfolipase.

Palavras-Chave: *Candida sp.*, candidíase vulvovaginal, fosfolipase e proteinase

Summary

Isolation of *Candida sp.* from vaginal mucosal of woman taken care of in a service of gynecology of Santo Ângelo City - RS

Background: Among the vulvovaginitis, candidiasis is the most frequent cause in women at reproductive age. Several researches have showed an increase in the frequency of the non-albicans species, and a great concern with repetitive episodes. The species that appears in major cases is *Candida albicans*, although some other species are also documented, like *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* and *Candida krusei*. **Objectives:** The aim of this study was to determine the frequency of vaginal colonization by *Candida*, identify species of isolates and determining the relative level of the proteinase and phospholipase. **Material And Method:** The material collected were inoculated on Sabouraud dextrose agar, and the isolates were identified through microculture test. **Results:** From the 88 samples collected 18,18 % were positive to *Candida sp.* and within them, 81,25 % were *Candida albicans* followed by *C. tropicalis* (6,25%), *C. glabrata* (6,25 %) and *C. krusei* (6,25 %). The enzymatic evaluation demonstrated that 58,25 % of *Candida sp.* colonies produced proteinase and 68,75 % phospholipase.

Keywords: *Candida sp.*, vulvovaginal candidiasis, phospholipase and proteinase

Introdução

O gênero *Candida* pertence ao Reino Fungi, grupo *Eumycota*, filo *Deuteromycota*, classe *Blastomycetes* e faz parte da família *Cryptococcaceae*. As principais espécies de interesse clínico neste gênero são *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (3, 15, 29).

A *Candida* é uma levedura di-

mórfica, considerada um patógeno oportunista, o qual depende de fatores próprios de virulência e fatores pré-disponíveis do hospedeiro para causar a infecção. As leveduras do gênero *Candida* fazem parte da flora normal do intestino e da vagina, permanecem neste habitat como colonizantes e quando encontram condições apropriadas se multiplicam, expõem os fatores de virulência, invadem a mucosa e causam a infecção. As

candidíases apresentam uma grande variedade de manifestações clínicas, as quais podem ser divididas em candidíase muco-cutânea, caracterizada pelo surgimento de lesões de pele, unhas e mucosas da orofaringe e genitais; candidíase sistêmica ou visceral, caracterizada por disseminação do microrganismo por via sangüínea para outros órgãos e candidíase alérgica, com lesões semelhantes às dermatofitoses (6, 10, 15, 29).

O poder patogênico da *Candida sp.* depende de alguns fatores de virulência como a capacidade de crescer a 37°C, a qual permite um bom desenvolvimento no corpo humano; a formação de hifas e pseudohifas, as quais representam um obstáculo para a fagocitose e permitem a fixação da levedura nos epitélios; a produção de fosfolipases e de proteinases que auxiliam na aderência da levedura à mucosa do hospedeiro e também facilitam a invasão fúngica; e as mananas que promovem a depressão da imunidade (15, 22, 26, 29).

A vulvovaginite é a infecção mais comum do trato genital feminino, caracterizada por uma tríade de sintomas como dor vulvovaginal, prurido e ardor. Nos casos de candidíase vulvovaginal os sintomas envolvem também inflamação, leucorréia espessa, grumosa e com mau odor, vulva e vagina hiperemiadas, edemaciadas e com fissuras, mucosa vaginal com placas brancas, amareladas ou pseudomembranosas. Como fatores predisponentes para a candidíase vulvovaginal, podem ser citados o uso de antibióticos de amplo espectro, contraceptivos orais com alta concentração de estrogênio, vida sexual ativa, alto teor de glicogênio das células epiteliais da vagina e gravidez (3, 4, 10, 18, 21, 26, 27, 30, 31).

A candidíase vulvovaginal ocupa o segundo lugar entre as vaginites. Estima-se que 75% das mulheres adultas apresentem pelo menos um episódio de vulvovaginite fúngica em sua vida, sendo que 5% irão apresentar candidíase vulvovaginal recorrente. *Candida albicans* pode ser isolada de 20 – 25% de pacientes assintomáticas saudáveis, pois esta levedura é um microrganismo comensal da flora vaginal. Estima-se que as cepas não-*albicans* têm aumentado muito nos últimos anos. Clinicamente, ambas infecções são indistinguíveis, uma vez que causam sintomas muito semelhantes (10, 12, 18, 21, 26, 27, 32).

O diagnóstico clínico da candidíase vulvovaginal é sugerido pela

presença dos sintomas clássicos. Esta constatação deve ser confirmada pelo diagnóstico laboratorial, onde são coletadas amostras de exudato vaginal com o auxílio de *swabs* estéreis. Na microscopia, a lâmina deve ser confeccionada com KOH 10 – 40%, onde são observadas estruturas blastoconidiadas, associadas ou não a pseudohifas. Para o isolamento de leveduras, as amostras podem ser semeadas em ágar Sabouraud, onde após incubação a 37°C por 24 – 48 horas, as colônias aparecem com textura glabra e coloração branco-amareladas. A determinação das espécies é realizada por testes de assimilação e fermentação de carboidratos, prova do tubo germinativo e semeadura no meio CHROMágar (12, 14, 21, 29, 30, 32).

O objetivo do presente trabalho foi isolar *Candida sp.* da mucosa vaginal, determinar as espécies e avaliar a produção das enzimas fosfolipase e proteinase nos isolados clínicos.

Materiais e Métodos

Pacientes

Foram coletados *swabs* da mucosa vaginal de 88 pacientes, independente de ter ou não sintomas de candidíase vulvovaginal, com idade entre 17 e 65 anos, atendidas em um serviço de ginecologia do Município de Santo Ângelo – RS. As coletas foram realizadas por um clínico atuante no respectivo consultório, no período de um ano. Os *swabs* foram armazenados em meio de transporte, sob refrigeração (4°C) até o momento do cultivo. As pacientes incluídas na pesquisa assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e foram informadas sobre a finalidade da pesquisa, bem como tiveram garantida a privacidade e confiabilidade dos mesmos. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, sob protocolo nº 032-4/TCH/06.

Isolamento de *Candida sp.*

Os *swabs* da mucosa vaginal foram semeados em placas de Petri contendo ágar Sabouraud e incubados a 37°C por 48 horas. As colônias cremosas de coloração clara que cresceram sob o meio de cultura e ao exame microscópico apresentaram-se como blastoconídeos, foram caracterizadas como *Candida sp.*

Determinação das espécies

As amostras foram submetidas à determinação da espécie, pela prova do tubo germinativo. Nesta técnica, colônias de leveduras recentemente repicadas foram incubadas em 500 µL de soro humano a 37°C por 3 horas, em banho d'água. Após a incubação foi realizada a pesquisa microscópica do tubo germinativo nas amostras testadas. Foi incluída uma cepa de *C. albicans* ATCC 10231 para controle positivo. As amostras que produziram tubo germinativo foram classificadas como *Candida albicans*. Para a determinação das espécies não-*albicans*, foi realizado o microcultivo, conforme Sidrim & Moreira (29).

Atividade de fosfolipase e proteinase

Os isolados foram submetidos à pesquisa de enzimas fosfolipase e proteinase. Suspensões das leveduras em água destilada esterilizada, equivalente a 1 na escala de MacFarland, foram inoculadas em pontos equidistantes, respectivamente, nos meios de ágar proteinase (extrato de levedura 11,7g; albumina bovina 2g; protovit 3 gotas, ágar 18g e H₂O 1000 mL) e ágar fosfolipase (ágar Sabouraud 65g; NaCl 57,3g; CaCl₂ 0,55g; gema de ovo 40g e H₂O 1000 mL).

As placas contendo dois inóculos de diferentes cultivos permaneceram incubadas a 37°C, durante sete dias para proteinase e quatro dias para fosfolipase. A presença da atividade da proteinase e da fosfolipase foi verificada pela formação de um halo transparente ou opaco ao redor da colônia, respectivamente. A atividade enzimática (Pz)

foi obtida por meio da razão entre o diâmetro da colônia e o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação. Quando Pz foi igual a 1, foi considerada atividade enzimática negativa; $0,64 < Pz > 1,0$, atividade enzimática positiva e $Pz \leq 0,63$ atividade enzimática fortemente positiva (16).

Resultados

Dos 88 swabs da mucosa vaginal analisados, foi possível isolar leveduras do gênero *Candida* de 16 amostras (18,18%).

Candida albicans foi a espécie predominantemente identificada, correspondendo a 81,25% (13/16) dos isolados. Observou-se 1/16 (6,25%) de cepas de *Candida krusei*, 1/16 (6,25%) de *Candida glabrata* e 1/16 (6,25%) de *Candida tropicalis* (Figura 1).

A pesquisa da atividade enzimática foi realizada com as 16 amostras isoladas, dentre estas, 11 amostras (68,75%) foram produtoras de fosfolipase e nove amostras (56,25%) produtoras de proteinase, com índices de Pz variando entre 0,31 e 0,79 indicando atividade enzimática positiva e fortemente positiva para os isolados (Tabela 1).

Discussão

A candidíase vulvovaginal é a segunda maior causa de vaginite aguda, precedida apenas pelas infecções bacterianas (13). A levedura pode variar da forma comensal para a forma patogênica, levando ao desenvolvimento de manifestações clínicas. As espécies do gênero *Candida* são agentes de vaginite, *Candida albicans* é a principal espécie envolvida nesta infecção seguida por *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, entre outras (1, 5, 6, 13).

Em nosso estudo, a frequência de cultura positiva para leveduras do gênero *Candida sp.* foi de 18,18%. Segundo estudo realizado por Suárez, et al. (32), no qual foi avaliada a

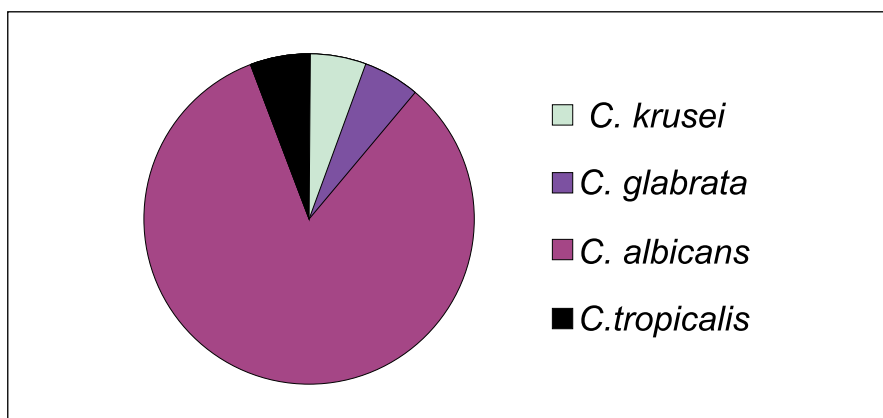


Figura 1. Espécies do gênero *Candida* isoladas

Tabela 1. Atividade de fosfolipase e proteinase de espécies de *Candida sp.* isoladas da mucosa vaginal

Nº Isolado	Espécie	Valor Pz Proteinase	Valor Pz Fosfolipase
03	<i>Candida krusei</i>	1	1
06	<i>Candida glabrata</i>	1	1
09	<i>Candida albicans</i>	0,79	1
10	<i>Candida albicans</i>	1	0,31
13	<i>Candida albicans</i>	1	0,58
16	<i>Candida albicans</i>	1	0,64
19	<i>Candida albicans</i>	0,71	0,52
32	<i>Candida albicans</i>	0,77	0,52
43	<i>Candida albicans</i>	0,70	0,74
48	<i>Candida albicans</i>	0,71	0,48
49	<i>Candida albicans</i>	0,69	0,61
58	<i>Candida tropicalis</i>	0,73	1
62	<i>Candida albicans</i>	1	0,53
78	<i>Candida albicans</i>	0,75	0,36
87	<i>Candida albicans</i>	1	0,33
88	<i>Candida albicans</i>	0,70	1

presença de leveduras em exudatos vaginais de 138 mulheres, a presença de *Candida sp.* foi estimada em 88,49% das pacientes, Trichosporum em 10,79% e Rhodotorula em 0,72% dos casos.

Em estudo desenvolvido por Neto, et al. (18), leveduras pertencentes ao gênero *Candida* foram encontradas em 18 casos (25%). No trabalho de Azzam-W, et al. (3), das 200 pacientes

avaliadas, *Candida sp.* representou 84,2% dos casos. Os resultados de Rosa & Rumel (27), indicam que a prevalência de *Candida sp.* na mucosa vaginal foi de 19,3 %, o qual se assemelha ao resultado obtido pelo presente trabalho. Essa diferença pode ser explicada, por este estudo englobar pacientes assintomáticas e sintomáticas.

Dentre as espécies isoladas neste

estudo, *Candida albicans* foi a espécie mais prevalente (81,25%) e as espécies não-*albicans* corresponderam a 18,75% dos isolados. Ferrazza, *et al.* (10) identificaram em seu trabalho que 77,4% dos casos de candidíase vulvovaginal são devidos à espécie *Candida albicans*. De acordo com Crocco, *et al.* (9), a predominância de *Candida albicans* pode ser observada tanto em pacientes imunocompetentes como em imunossuprimidas e teve uma prevalência de 76% em seus isolados. Suárez, *et al.* (32) identificaram um índice de 50% de *Candida albicans* entre seus isolados.

As espécies não-*albicans* isoladas neste trabalho estão de acordo com a literatura revisada, com 1,6% de *Candida glabrata*, 1,6% de *Candida krusei* e 1,6% de *Candida tropicalis*. De acordo com o estudo realizado por Neto *et al.* (18), em 18 casos de candidíase vulvovaginal, 22,2% dos isolados foram *Candida* não-*albicans*, prevalecendo a *Candida glabrata*. Conforme trabalho de Oliveira, *et al.* (20), *Candida tropicalis* foi isolada em 53% dos casos, enquanto que *Candida albicans* foi encontrada em apenas 36% dos isolados, o que demonstra um aumento na frequência de isolamento de leveduras não-*albicans* (10). Os episódios de candidíase vulvovaginal recorrente geralmente são causados por espécies não-*albicans* (13, 25).

Candida glabrata é uma espécie que tem emergido como importante patógeno, sendo a segunda espécie mais isolada em infecções superficiais (11). Em estudo realizado por Azzam, *et al.* (3) em pacientes com vulvovaginite, *C. glabrata* representou 10,42% de seus isolados. Em trabalho desenvolvido por Neto, *et al.* (18) envolvendo pacientes assintomáticas e sintomáticas, a espécie em questão foi a mais prevalente entre as espécies não-*albicans* (16,7%). Esses resultados indicam uma tendência de mudança na etiologia da candidíase após décadas de domínio de *Candida albicans*

(13). Entretanto, em nosso estudo não foi evidenciado o predomínio de uma espécie não-*albicans* em relação às outras, tendo em vista o reduzido número de isolados não-*albicans*.

Nesta pesquisa, foi analisada a produção das enzimas fosfolipase e proteinase e os resultados obtidos estão de acordo com os parâmetros encontrados por outros autores. A produção de proteinase e fosfolipase foi detectada nas amostras de *Candida albicans* isoladas, o que comprova o alto poder patogênico desta espécie (3, 10, 24). Naglik, *et al.* (17) abordam que a produção destas enzimas é maior em espécies de *C. albicans* e está diretamente relacionada ao poder de virulência e patogenicidade da espécie. Segundo Cardona-Castro, *et al.* (8), a produção de enzimas proteolíticas tem relação com os casos de infecções recorrentes.

Os isolados de *Candida albicans* identificadas como produtoras de proteinase e fosfolipase apresentaram uma atividade enzimática positiva e fortemente positiva, com Pz variando entre 0,31 e 0,79. Candido, *et al.* (7) e Menezes, *et al.* (16) obtiveram resultados semelhantes em seus estudos, com variação de Pz de 0,3 a 0,9; e 0,64 a 0,99 respectivamente. Dentre as amostras analisadas no presente trabalho, 58,25% apresentaram atividade positiva para proteinase e 68,75% mostraram positividade para fosfolipase.

Quanto à atividade enzimática de *Candida albicans*, 84,61% foram produtoras de fosfolipase e 61,83% foram produtoras de proteinase. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Candido, *et al.* (7), que mostram uma frequência de 71,9% de positividade para fosfolipase e de 68,7% de proteinase em espécies de *Candida albicans* isoladas em seu estudo. Os isolados de *Candida* não-*albicans* não apresentaram atividade de proteinase e apenas o isolado de *Candida tropicalis* demons-

trou produção de fosfolipase, com Pz de 0,73. Estes resultados eram esperados, uma vez que as espécies não-*albicans* como *C. krusei* e *C. glabrata* não são produtoras destas enzimas (2).

Os efeitos das enzimas fosfolipase e proteinase são importantes, pois promovem a degradação dos componentes da membrana celular, o que facilita a adesão do fungo à parede vaginal, permitindo a invasão tecidual. A fosfolipase se localiza na superfície da levedura e na extremidade do tubo germinativo, causando danos ao epitélio. Quanto à proteinase, esta tem a capacidade de inativar moléculas do sistema imune e degrada as proteínas do hospedeiro. Pode-se dizer que a secreção de proteinase e fosfolipase são fatores de virulência importantes nas infecções de mucosa, uma vez que contribuem para a indução do processo inflamatório (13, 17, 18, 19, 28, 33). O isolamento das cepas agentes da candidíase vulvovaginal, a determinação das espécies e a avaliação dos fatores de virulência são imprescindíveis para uma boa compreensão dos casos clínicos, principalmente em casos recorrentes.

Conclusão

- A frequência de isolamento de *Candida sp.* da mucosa vaginal foi de 18,18%.
- Dentre os isolados, 81,25% foram caracterizados como *Candida albicans* e 18,75% como cepas não-*albicans*.
- As espécies de *Candida albicans* produtoras de proteinase e fosfolipase apresentaram uma atividade enzimática positiva e fortemente positiva, com Pz variando entre 0,31 a 0,79.



Correspondências para:
Profª Letícia Silveira Goulart
lgoulart@urisan.tche.br

Referências Bibliográficas

1. Adad SJ et al. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida* sp and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. *São Paulo Méd. J.*, v. 119, n. 6, p.200-205, 2001.
2. Agatensi L et al. Vaginopathic and proteolytic *Candida* species in outpatients attending a gynecology clinic. *J. Clin. Pathol.*, v. 44, n. 10, p. 826-830, 1991
3. Azzam-WM et al. Vulvovaginitis por *Candida* spp. y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. *Invest. Clin.*, v. 43, n. 1, p. 03-13, 2002.
4. Beaumord CF. *Candíase Vulvo Vaginal Recorrente*. Disponível em: www.portaldeginecologia.com.br/modules.php?name=News&file=article&sid=263 Acesso em: setembro de 2006.
5. Boatto HF et al. Relationship of laboratory results clinical signs and symptoms of patients with vulvovaginal candidiasis and the significance of the sexual partners for maintenance of the infection. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 29, n. 2, p. 80-84, 2007.
6. Boriollo MFG et al. Ferramentas moleculares para caracterização de *Candida albicans* (Robin) Berkhout (1923) em estudos epidemiológicos. *Rev. Estud. Biol.*, v. 27, n. 58, p. 21-42, 2005.
7. Candido RC, Azevedo RVP, Komesu MC. Enzimatipagem de espécies do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal. *Rev. Soc. Bras. Méd. Trop.*, v. 33, n. 5, p. 437-442, 2000.
8. Cardona-Castro N et al. Proteinase detection, DNA typing and antimycotic susceptibility of *Candida* isolates from Colombian women with vulvovaginal candidiasis. *Rev. Iber. Micol.*, v. 19, p. 89-94, 2002.
9. Crocco EI et al. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. *An. Bras. Dermatol.*, v. 79, n. 6, p. 689-697, 2004.
10. Ferrazza MSHH et al. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 27, n. 2, p. 58-63, 2005.
11. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 12, n. 1, p. 80-96, 1999.
12. Galle LC, Gianinni MJSM. Prevalência e susceptibilidade de leveduras vaginais. *J. Bras. Patol. Méd. Lab.*, v. 40, n. 4, p. 229-236, 2004.
13. Holanda AAR et al. *Candíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante*. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 29, n. 1, p. 3-9, 2007.
14. Koneman EN. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
15. Lacaz CS et al. *Tratado de Micologia Médica*. São Paulo: Sarvier, 2002.
16. Menezes EA et al. Frequência e atividade enzimática de *Candida albicans* isoladas da mucosa bucal de crianças de uma creche da prefeitura de Fortaleza. *J. Bras. Patol. Méd. Lab.*, v. 41, n. 1, p. 9-13, 2005.
17. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartic proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v. 67, n. 3, p. 400-428, 2003.
18. Neto AA, Hamdan JS, Souza RC. Prevalência de *Cândida* na flora vaginal de mulheres atendidas num serviço de planejamento familiar. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 21, n. 8, p. 441-445, 1999.
19. Oliveira EE et al. Toxinas killer e produção de enzimas por *Candida albicans* isoladas da mucosa bucal de pacientes com câncer. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 31, p. 523-527, 1998.
20. Oliveira RDR, Maffei CML, Martinez R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v. 47, n. 3, p. 191-192, 2001.
21. Pádua RAF, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. In vitro activity of antifungal agents on yeasts isolated from vaginal secretion. *Acta Scientiarum, Health Sciences.*, v. 25, n. 1, p. 51-54, 2003.
22. Penha SS et al. Frequency and enzymatic activity (proteinase and phospholipase) of *Candida albicans* from edentulous patients, with and without denture stomatitis. *Pesq. Odont. Bras.*, v. 14, n. 2, p. 119-122, 2000.
23. Price MF et al. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabourandia*, v. 20, p. 7-14, 1982.
24. Ribeiro EL. Aspectos biológicos das leveduras do gênero *Candida* isoladas de candidíase vaginal. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 31, n. 5, p. 595, 1998.
25. Richter SS et al. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J. Clin. Microbiol.*, v. 43, n. 5, p. 2155-2162, 2005.
26. Rodrigues FM. *Candíase vulvovaginal recorrente: Tratar é fácil, curar é difícil*. *Rev. Resid. Med.*, v. 01, n. 2, 2006. Disponível em: http://www.medstudents.com.br/residencia_medica/vol01n02/menezes.htm Acesso em: setembro de 2006.
27. Rosa MI & Rumel D. Fatores associados à candidíase vulvovaginal: estudo exploratório. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 26, n. 1, p. 65-70, 2004.
28. Shaller M et al. *Candida albicans* – Secreted aspartic proteinases modify the epithelial cytokine response in an In vitro model of vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, v. 73, n. 5, p. 2758-2765, 2005.
29. Sidrim JJC, Moreira JLB. *Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
30. Simões JA. Sobre o diagnóstico da candidíase vaginal. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 27, n. 5, p. 233-234, 2005.
31. Sobel JD & Chaim W. Vaginal microbiology of women with acute recurrent vulvovaginal candidiasis. *J. Clin. Microbiol.*, v. 34, n. 10, p. 2497-2499, 1996.
32. Suárez VL & Lancha MRP. Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. *Rev. Cubana Med. Trop.*, v. 56, n. 1, p. 21-25, 2004.
33. Taylor BN et al. Profile of *Candida albicans* – Secreted aspartic proteinase elicited during vaginal infection. *Infect. Immun.*, v. 73, n. 3, p. 1828-1835, 2005.