

FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS NO TRATO GENITAL FEMININO, ISOLADOS ATRAVÉS DE DIFERENTES METODOLOGIAS

MURILO RODRIGUES BARBOSA DE FREITAS ¹
MARINÉS DALLA VALLE MARTINO ²
JACYR PASTERNAK ³

1. Farmacêutico – bioquímico, Universidade Federal de Alfenas, Unifal, Microbiologista Clínico, Hospital Israelita Albert Einstein-HIEA.
2. Doutora em Medicina, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa, SP.
3. Graduado em Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Doutor em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Estadual de Campinas.

Autor responsável: M.R.B. FREITAS. E-mail : murilaofreitas@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

A microbiota vaginal é característica em mulheres pré e pós-menarca, gestantes e pós-menopausa. No feto a vagina é microbiologicamente estéril. Os primeiros microorganismos adquiridos são das mãos dos responsáveis e das fezes na infância (SPIEGEL, 1991). Nas primeiras seis semanas de vida, o estrógeno materno influencia no epitélio vaginal, gerando, com isso, uma microbiota com predominância de lactobacilos facultativos (SPIEGEL, 1991).

Depois que o estrógeno adquirido é metabolizado, a flora vaginal se constitui principalmente de microorganismo de pele, como estafilococos coagulase negativo e organismos de origem fecal como *Escherichia coli* (SPIEGEL, 1991). Depois da menarca, a microbiota facultativa de uma vagina saudável é constituída de bactérias em forma de lactobacilos e difiteróides, incluindo *Gardnerella vaginalis* (SPIEGEL, 1991). Outros organismos Gram positivos, incluindo estafilococos coagulase-negativos e estreptococos alfa e não hemolíticos também estão presentes; bacilos Gram negativos são menos comuns (SPIEGEL, 1991). A maior parte das mulheres ainda são colonizadas por organismos anaeróbicos como peptostreptococos, *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*, *Prevotella spp*, *Porphyromonas spp* e *Mycoplasma spp* (SPIEGEL, 1991). Depois da menopausa, lactobacilos facultativos podem ser cultivados de 65% dessas, mas estes não são predominantes em lâminas corados pelo Gram (SPIEGEL, 1991).

A vaginite constitui uma doença comum que aparece nos consultórios médicos e que mais obriga mulheres a consultarem obstetras e ginecologistas (ADAD, 2001). Vaginose bacteriana, candidíase e trichomoníase são responsáveis por 90 % dos casos desse tipo de infecção (ADAD, 2001). Vaginose bacteriana é caracterizada pela substituição da microbiota vaginal, normalmente predominante de lactobacilos, por outras bactérias normalmente encontradas no trato genital feminino, como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides sp*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus SP* (ADAD, 2001). Uma secreção fétida é típica de infecção por *Gardnerella vaginalis* (ADAD, 2001). Os sintomas da infecção por *Candida spp* acontecem quando há proliferação excessiva desse microorganismo na flora vaginal, depois de colonizar ela começa a exercer diretamente a aderência nas células vaginais, consequentemente causando infecção (ADAD, 2001). O paciente se apresenta com uma secreção fétida e grosseira, de aspecto granular (ADAD, 2001). A vagina se torna hiperêmica e eritematosa, podendo sofrer escoriações e a paciente pode sofrer de dispaurenia. *Trichomonas vaginalis* é um protozoário flagelado de transmissão sexual relatado em populações de baixo nível sócio econômico (ADAD, 2001). Os pacientes com tricomoníase apresentam um corrimento espumoso e amarelo-esverdeado; irritação e dor na vulva, períneo e coxa, além de dispaurenia e disúria (ADAD, 2001).

Outro importante patógeno do trato genital feminino, *Chlamydia trachomatis*, constitui um grupo particular

de bactérias com um ciclo de desenvolvimento intracelular e com propriedades antigênicas (BARNES, 1989). *C. trachomatis* infecta a endocérnix da mulher e pode causar cervicite mucopurulenta (BARNES, 1989). Essa infecção freqüentemente se espalha para uretra e bexiga causando a “síndrome uretral aguda”, com piúria e sem bacteriúria (BARNES, 1989). A conseqüência clínica mais severa da infecção genital por clamídia é a ascensão da infecção ao endométrio e tubas de falópio, resultando em endometrite e salpingite (BARNES, 1989).

Streptococcus do grupo B é a causa mais comum de infecção bacteriana pré-natal, incluindo endometrite pós parto, corioamnionite, infecção do trato urinário e sistêmica em gestantes (MIURA, 2001). Essa doença neonatal invasiva é classificada em dois grupos, baseado em seu desenvolvimento depois do nascimento. No primeiro grupo, ocorre sepse, normalmente, nas primeiras 24 horas de vida, variando de zero a seis dias. No segundo grupo a sepse aparece entre a terceira e quarta semana de vida, variando de sete dias a três meses. O primeiro grupo de sepse se caracteriza por taquipnéia, apnéia, e pneumonia, e é freqüentemente letal. Em contraste a infecção tardia gera doença infecciosa menos severa e acompanhada de meningite (MIURA, 2001). A presença de estreptococos beta hemolítico do grupo B em secreção vaginal ou anal não significa doença para a mulher, mas risco para a criança adquirir bacteremia e meningite se tiver contato com o *Streptococcus agalactiae* no canal de parto. É indicada, neste caso, profilaxia antibiótica. O grande valor do exame é a detecção em paciente grávida durante a 35ª a 37ª semana de gestação (MIURA, 2001).

Neisseria gonorrhoeae é um patógeno obrigatório humano, sendo o agente etiológico da gonorréia (NG, 2005). As síndromes englobam cervicites em mulheres e uretrite, faringite e infecção do ânus em ambos os sexos (NG, 2005). Se não tratada, mulheres podem ter como conseqüência uma severa inflamação pélvica, dor pélvica crônica, gravidez ectópica e infertilidade tubal (NG, 2005). Ocasionalmente alguns indivíduos podem desenvolver infecção disseminada com complicações sistêmicas, já outros podem ter infecção assintomática e transmitir a doença sem saber (NG, 2005).

Os micoplasmas, denominação comum dos gêneros *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, representam um grupo único e complexo de microrganismos que tem sido ignorado pela maioria dos laboratórios de diagnóstico, não só devido ao seu crescimento fastidioso, falta de meios comerciais e ausência de procedimentos para um diagnóstico rápido, mas, sobretudo devido a percepção clínica de longa data e amplamente difundida de que estes microrganismos são de menor importância (DOMINGUES, 2005).

Recentemente, esta situação tem sido invertida, devido a melhor compreensão da sua importância clínica, da sua recente associação à infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), a complicações na gestante e no recém nascido e a doenças do foro reumatológico, assim como da necessidade da sua erradicação em pessoas infectadas (DOMINGUES, 2005). *Mycoplasma hominis* faz parte da microbiota comensal da vagina de 20 a 50% de mulheres assintomáticas, podendo atingir 90%.

A colonização por este agente, tal como por *Ureaplasma urealyticum*, está relacionada com a idade jovem, estado socioeconômico baixo, atividade sexual com múltiplos parceiros e uso de anticoncepcionais orais, sendo mais freqüente em pessoas da raça negra (DOMINGUES, 2005). Contribui para o desenvolvimento de vaginose bacteriana e de doença inflamatória pélvica (DIP). *Ureaplasma urealyticum* pode ser encontrado na vagina de 40 a 80% das mulheres assintomáticas e sexualmente ativas (DOMINGUES, 2005). Tem sido também associado a cálculos urinários, prostatites, epididimites, artrites (principalmente em doentes hipogamaglobulinêmicos com poliartrite reativa destrutiva), síndrome de Reiter e a infecção disseminada em imunocomprometidos, DIP e a vaginose bacteriana (DOMINGUES, 2005).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi retrospectivo e o levantamento dos dados utilizou o sistema laboratorial-Medtrak do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), pelo próprio pesquisador.

Foram avaliadas pacientes do sexo feminino, dos 16 aos 60 anos, atendidas no HIAE, no período de janeiro a agosto de 2008, das quais houve solicitação de bacterioscopia, cultura ou pesquisa por testes moleculares de patógenos genitais.

Os microorganismos em análise foram *Candida* spp, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae*, *Trichomonas vaginalis*. *Ureaplasma urealyticum*

A cultura aeróbia e a bacterioscopia foram feitas com amostras coletadas com swab estéril da fórnix posterior. Estes foram semeados em ágar sangue, ágar chocolate, ágar Thayer Martin modificado (VCN – *vancomycin*, *colistin*, *nystatin* – seletivo para *Neisseria* sp) e ágar TODD (seletivo para estreptococo do grupo B). As lâminas foram coradas pelo Gram e analisadas de acordo com MONEY, 2005; o esfregaço foi avaliado observando os diferentes morfotipos celulares na objetiva de imersão, onde é feita uma quantificação de acordo com a tabela 1:

Tabela 1. Quantificação para vaginose bacteriana (MONEY, 2005)

Quantidade	Número de pontos de acordo com a quantidade do tipo morfológico				
	Nenhum	1+	2+	3+	4+
Bacilo Gram positivo Médio/Grande	4	3	2	1	0
Bacilo Gram negativo / lábil pequeno	0	1	2	3	4
Bacilo Gram negativo / lábil curvado	0	1	2	3	4

(MONEY, 2005)

A quantificação é feita da seguinte forma:

1+ (raros): menos que 1 por campo

2+ (poucos): 1 a 5 por campo

3+ (moderados): 6 a 30 por campo

4+ (numerosos): > 30 por campo (MONEY, 2005)

Interpretação do “score” vaginal:

0 a 3= Normal

4 a 6 = Intermediário

7 a 10 = Vaginose Bacteriana (MONEY, 2005)

A pesquisa de *Trichomonas vaginalis* foi feita através da coloração de Giemsa.

A busca por *Chlamydia trachomatis* e também de *Neisseria gonorrhoeae* efetuou-se com material endocervical, através de “Polymerase Chain Reaction” (PCR), usando o AMPLICOR CT/NG que é um teste executado em quatro etapas: preparação da amostra, ou seja, a extração do DNA; amplificação do DNA-alvo por PCR utilizando primers biotinilados; hibridização dos produtos de amplificação com sondas de oligonucleotídeos específicos para o DNA-alvo e, detecção do conjunto sonda-produto de amplificação através do desenvolvimento de cor (kit Roche®).

A identificação de estreptococo do grupo B realizou-se por: técnicas manuais (identificação por resposta dos microrganismos frente a substâncias químicas ou biológicas que promovem a inibição ou promoção do seu desenvolvimento); prova de aglutinação do látex, usada para extrair antígenos estreptocócicos da cepa bacteriana, que em contato com as partículas de látex previamente conjugadas com anticorpos de grupo específico, aglutinam, indicando assim o grupo específico de Lancefield; e técnica automatizada (Vitek System – faz identificação dos microrganismos por fotometria que mede a densidade óptica e mudança de cor das reações bioquímicas dos cartões).

Para a pesquisa de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* foi usado o kit Mycoplasma IST 2 – bioMérieux® de identificação. Esse kit é um dispositivo completo destinado ao diagnóstico dos micoplasmas urogenitais. Permite a cultura, a identificação, a contagem indicativa e a determinação de sensibilidade aos antibióticos de *Ureaplasma urealyticum* e de *Mycoplasma hominis*. Mycoplasma IST 2 associa um caldo de cultura seletivo a uma galeria que contém 22 testes.

O caldo adapta-se ao excelente crescimento dos micoplasmas (pH, substratos, associação de vários fatores de crescimento). A presença de substratos específicos (uréia para *U. urealyticum* e arginina para *M. hominis*) e de um indicador (vermelho de fenol) permite, em caso de cultura positiva, visualizar uma mudança de cor do caldo ligado a um aumento do pH. A seletividade em relação à flora de contaminação eventualmente presente na amostra é fornecida pela associação de 3 antibióticos e de um antifúngico. Essa galeria permite obter simultaneamente: a identificação, a contagem indicativa e a sensibilidade em relação a 9 antibióticos (Doxiciclina, Josamicina, Ofloxacina, Eritromicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Azitromicina, Claritromicina, Pristinamicina).

RESULTADOS

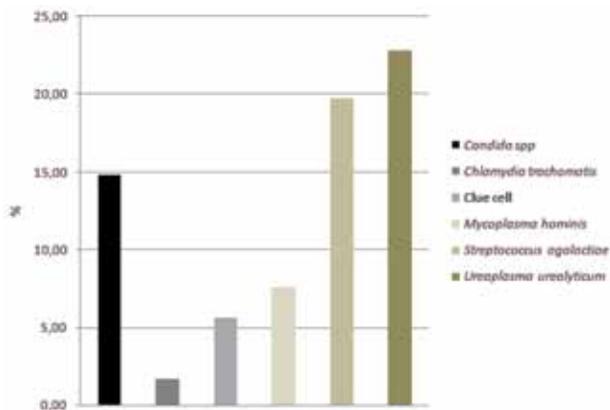
Foram analisados os resultados de 715 culturas aeróbias e 715 bacterioscopias de secreção vaginal, 276 culturas para micoplasmas, 165 colorações de Giemsa e 179 PCRs para *Chlamydia trachomatis*, totalizando 2.050 exames. Todos os pedidos de cultura aeróbia tiveram simultaneamente o pedido de bacterioscopia de secreção vaginal. Todos aqueles que tiveram o pedido de cultura para micoplasmas, pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, e pedido de PCR para *Chlamydia trachomatis*, também tiveram o pedido de cultura aeróbia de secreção vaginal e bacterioscopia.

Não houve isolamento de *Neisseria gonorrhoeae* em nenhuma das 715 culturas realizadas, também não se identificou *Trichomonas vaginalis* nas 165 colorações de Giemsa efetuadas.

O procedimento com maior frequência de positividade foi a cultura aeróbia com 34,5%, seguida pela cultura

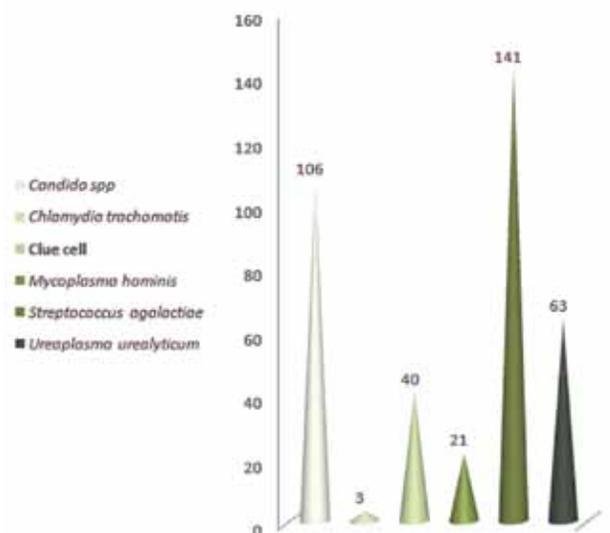
de micoplasmas 26,4%, e bacterioscopia 5,6%. O microrganismo identificado com maior frequência foi *Ureaplasma urealyticum*, em 22,8% das culturas realizadas, seguido pelo *Streptococcus agalactiae*, em 19,7% das culturas aeróbias, e *Candida spp* com 14,8% das culturas aeróbias (Figura 1).

Figura 1. Distribuição Total de Microorganismos identificados por diferentes metodologias do trato genital feminino, no período de janeiro a agosto de 2008, no laboratório do Hospital Israelita Albert Einstein.



Apesar da maior frequência encontrada com *Ureaplasma urealyticum*, em número total de microorganismos ele foi superado pelo *Streptococcus agalactiae* (141) e *Candida spp* (106), Figura – 2:

Figura 2. Número total de microorganismos encontrados nos testes executados



Foram identificados 374 microorganismos, sendo estes distribuídos em 222 isolados e 76 casos de presença múltipla, sendo 60 com dois microrganismos, 15 com três e um caso com quatro dos agentes pesquisados. Destaque para a presença simultânea de *Candida albicans* e *Streptococcus agalactiae* (23 casos, 7,72% do total de identificados), seguida da associação *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* (11 casos, 3,69%). A associação mais comum com três agentes foi **Clue Cell/M. hominis/U. urealyticum** (4 casos).

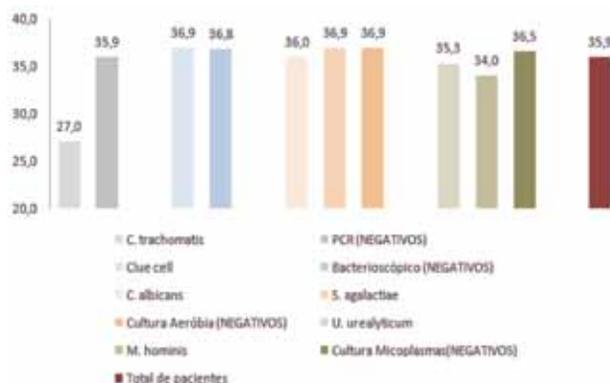
Na tabela 2 observamos o número de casos e a porcentagem de cada um deles nos teste positivos encontrados:

Tabela 2. Número total de cada microorganismo identificado e porcentagem de cada um considerando os testes positivos. Números de cada microorganismo isolado e associado.

Patógeno(s)	Número	%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	97	32,55
<i>Candida albicans</i>	59	19,80
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	42	14,09
Clue cell	15	5,03
<i>Candida glabrata</i>	4	1,34
<i>Mycoplasma hominis</i>	2	0,67
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,34
<i>Candida não albicans</i>	1	0,34
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1	0,34
<i>C. albicans/S. agalactiae</i>	23	7,72
<i>M. hominis /U. urealyticum</i>	11	3,69
Clue cell/ S. agalactiae	8	2,68
Clue cell/ U. urealyticum	4	1,34
<i>C. albicans / U. urealyticum</i>	6	2,01
<i>C. albicans/ Clue cell</i>	3	1,01
<i>S. agalactiae/ U. urealyticum</i>	3	1,01
<i>C. glabrata/ S. agalactiae</i>	1	0,34
<i>C. glabrata/ U. urealyticum</i>	1	0,34
Clue cell/ M. hominis/U. urealyticum	4	1,34
<i>C. albicans/ C.cell/ S. agalactiae</i>	3	1,01
<i>C. albicans/ S. agalactiae/ U. urealyticum</i>	2	0,67
<i>C. albicans/ Chlamydia sp/ U. urealyticum</i>	1	0,34
<i>Chlamydia sp/ S. agalactiae/ U. urealyticum</i>	1	0,34
Clue cell/ S. agalactiae/ M. hominis	1	0,34
Clue cell/ S. agalactiae/ U. urealyticum	1	0,34
<i>M. hominis/S. agalactiae/ U. urealyticum</i>	1	0,34
<i>C. glabrata/ M. hominis/U. urealyticum</i>	1	0,34
Clue cell/M. hominis/S. agalactiae/U. urealyticum	1	0,34
Total	298	100,00

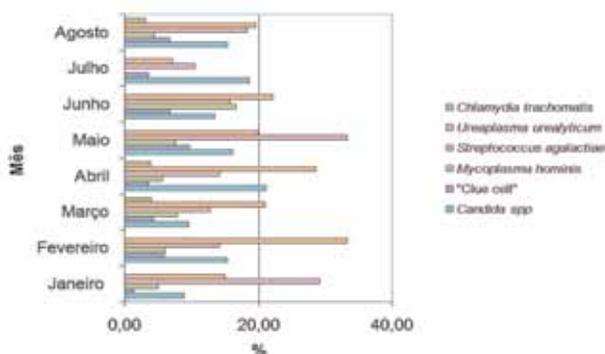
Considerando que a média de idade dos pacientes foi de 35,9 anos com mediana de 36 anos, foi feita uma correlação deste valor médio com os resultados encontrados, de acordo com a figura 3.

Figura 3. Média de idade dos resultados positivos, comparada à média de idade dos resultados negativos para o mesmo teste e a média total.



Uma análise mensal dos microorganismos pesquisados foi feita considerando o número total de cada isolado, a figura 4 mostra os picos mensais de cada microorganismo e a alternância de microorganismos mais frequentes a cada mês:

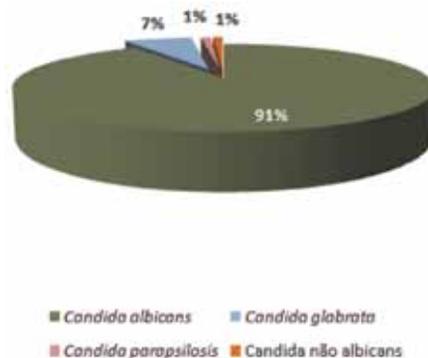
Figura 4. Frequência mensal de cada microorganismo.



Distribuindo-se os agentes durante os meses pesquisados, o *U. urealyticum* foi o mais freqüente, menos em janeiro, maio (*S. agalactiae*) e em julho (*Candida* spp). Neste levantamento os meses com maior número de exames solicitados foram março e agosto, no entanto, juntamente com julho, foram os meses de menor positividade nos teste realizados.

Foram isoladas 106 culturas aeróbias com *Candida* spp em 715 culturas, sendo que destas, 97 casos eram *Candida albicans*, 7 se tratava de *Candida glabrata*, 1 isolado de *Candida parapsilosis* e 1 caso de *Candida* spp (Figura-5).

Figura 5. Distribuição dos diferentes tipos de *Candida* spp



DISCUSSÃO

A maioria dos pacientes atendidos era ambulatorial (95,5%) e, como foi observado acima, não necessariamente era feito todos os exames em uma mesma solicitação. A maior positividade foi encontrada na cultura aeróbia (34,5%) o que explica por que esse exame é quase 2,6 vezes mais pedido que a cultura para micoplasmas, mas também a alta freqüência desses últimos coloca em pauta essa desproporção.

A alta incidência encontrada de *Ureaplasma urealyticum* confirma a sua presença demonstrada em outros estudos. Mesmo com essa alta freqüência, ainda é baixa se comparada com populações menos favorecidas como demonstrado em estudo feito com mulheres entre 15 e 45 anos provenientes de assentamentos urbanos e rurais em Papua New Guinéa – Nova Zelândia. Nesse estudo foi utilizado o mesmo kit de identificação (Mycoplasma IST 2 – bioMérieux®) onde foi encontrado 70% das culturas com presença de *M. hominis* e 78% de *U. urealyticum*, inclusive 60% de co-infecção (ALISON, 1997). Além da diferença sócio-econômica existe diferença na faixa etária de idade pesquisada, mais baixa no estudo neozelandês, e o grupo estudado em Papua New Guinéa fazia parte de uma pesquisa de doenças sexualmente transmissíveis, como tricomoníase e infecção por *C. trachomatis*, rotulando-a como uma população mais susceptível a infecções. Em outro trabalho, realizado na Argentina, *M. hominis* e *U. urealyticum* também foram encontrados em maior porcentagem

que no presente estudo, o primeiro em 16,5% dos cultivos (próximo ao encontrado), e o último em 61,4% dos casos (se aproximando do estudo neozelandês) (BARTOLOMEO, 2002). No estudo argentino a faixa etária foi a mesma aqui pesquisada mas a população diferente, por se tratar de hospital público.

Estudo realizado na Espanha comprovou a relação desses microrganismos causando infecção genital com infertilidade e obstrução tubária bilateral (RODRÍGUEZ, 2001). Dessa forma, evidencia-se a necessidade do tratamento precoce dessa infecção. Vale ressaltar a importância do teste de sensibilidade para esses microrganismos, pelo relato de resistência destes aos fármacos de escolha no tratamento de infecções urogenitais, as Tetraciclina (DE´GRANGE, 2008).

A frequência de *S. agalactiae* o coloca, junto com *Ureaplasma urealyticum*, em destaque. Sua frequência foi diferente em estudos como o de Bartolomeo e colaboradores (BARTOLOMEO, 2002) que encontraram este microrganismo somente em 5,6% das mulheres adultas e em 3,6% das adolescentes. Em um hospital particular na Grécia (IAVAZZO, 2008) foi encontrado em 4,1% das culturas, também abaixo do encontrado no HIAE. BORGER, 2005 – em estudo no Rio de Janeiro, analisando mulheres entre a 32ª e 41ª semana de gestação, encontrou uma frequência de 19,2% de colonização, mais próximo do presente estudo (19,7%). Confirmou, além disso, a susceptibilidade desse microrganismo frente à penicilina (resistência não relatada na literatura, o que a coloca como fármaco de escolha na prevenção de sepsis neonatal por *S. agalactiae*). Também comprovou uma tendência de aumento no número de cepas resistentes à eritromicina e clindamicina, fármacos utilizados no caso de pessoas alérgicas às penicilinas.

É preciso ainda destacar que o cultivo desse microrganismo apenas com material vaginal ou só cervical, é pouco sensível para identificar sua colonização, a junção da cultura vaginal com a anorretal aumenta em quase 25% a detecção do dente (DÍAZ, 2008). O presente trabalho analisou a rotina de pesquisa de estreptococo do grupo B de mulheres gestantes ou não, mas vale ressaltar que não foi analisado os resultados das culturas dos swabs anorretais, o que poderia aumentar essa incidência. É a presença de caldo seletivo a provável explicação para a maior frequência desse microrganismo encontrado no presente estudo e em BORGER, 2005. MIURA, 2001 comentou a falta de conhecimento na incidência desse microrganismo em outros hospitais nacionais, necessário para estabelecer diferentes estratégias para sua redução.

Neste levantamento foram isoladas 106 *Candida* spp, 14,8% das culturas aeróbias. Comparado a um estudo fei-

to pela Universidade Federal do Ceará, com mulheres sexualmente ativas da zona rural do nordeste, também foi encontrado um valor próximo de isolados, 12,5% (OLIVEIRA, 2007). Em um hospital particular da Grécia, esse índice chegou a 42,5%, sendo enfatizada no estudo a discrepância frente a outros trabalhos também gregos (estudos que apontam essa incidência próxima de 12%, similar à deste estudo). Foi atribuída essa diferença às condições climáticas locais e o uso abusivo de antibióticos. De acordo com ADAD, 2001, a incidência de candidíase no Brasil cresceu significativamente na última década, por causa do aumento no uso de contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal, o aparecimento de pacientes imunocomprometidos (VIH, terapia com corticóides) e, novamente, ao uso abusivo de antibióticos.

A grande maioria dos tipos de *Candida* spp encontradas no presente estudo se tratava de *Candida albicans* (91,5%), seguida por *Candida glabrata* (6,6%). A proporção das espécies de *Candida* spp é equivalente ao encontrado por VERMITSKY, 2008, em um estudo com 93.775 pacientes, utilizando PCR de amostras de swab cervicovaginal. VERMITSKY obteve 89% de *C. albicans*, 7,9% de *C. glabrata*, 1,7% de *C. parapsilosis* e 1,4% de *C. tropicalis*. VERMITSKY fez a divisão das pacientes por faixa etária, comprovando a maior porcentagem de *Candida* spp “não albicans” em idades mais avançadas (chegando, por exemplo, a quase 25% de *C. glabrata* em pacientes maiores de 70 anos). Isso explica, em parte, o menor número destas encontradas em nosso estudo, restrito às idades entre 16 e 60 anos. A mediana de idade das pacientes com cultura positiva para *Candida* spp “não albicans” neste levantamento foi de 40 anos, superior à mediana total de pacientes (36) e também à de mulheres com *C. albicans* (35 anos).

O diagnóstico da vaginose bacteriana (VB) causado por *Gardnerella vaginalis*, é feita pela análise dos seguintes aspectos: presença de secreção acinzentada homogênea; pH do fluido vaginal maior que 4,5; odor amínico de peixe após a adição de hidróxido de potássio a 10%; e presença de **Clue cell** (que foi o objeto de estudo deste trabalho), que é a visualização, na lâmina da secreção corada pelo Gram, da substituição da flora normal (lactobacilos – bacilos Gram positivos “largos”) por bacilos Gram variáveis pequenos (SPIEGEL, 1983).

O valor encontrado para a frequência de **Clue cell** no diagnóstico de VB, mostrou-se diferente de outros estudos. Em uma cidade no Ceará (OLIVEIRA, 2007), foi encontrado uma frequência de 20% de VB. ADAD, 2001; em uma análise por décadas diagnosticou em 1988 19,7% das mulheres com *Gardnerella vaginalis* e em 1998 15,8%. Em um levantamento indiano (MADHIVANAN, 2008) feito

em Mysore, esse índice chegou a 19%. A provável explicação para essa diferença na incidência de **Clue cell** é a idade nas populações de estudo. Todos os textos citados tinham médias de idade mais baixas. ESCHENBACH, 1993, aponta que a vaginose bacteriana aparece em 15 a 20% das mulheres grávidas e de 5 a 15% de mulheres atendidas em clínicas ginecológicas. O exame de papanicolau (que foi utilizado no estudo de ADAD) é menos sensível que os testes microbiológicos para triagem de VB, principalmente quando comparado com a avaliação pela lâmina de Gram, no entanto pela sua alta especificidade, é um diagnóstico adequado quando o teste é positivo (TOKYOL, 2004).

A baixa porcentagem de *Chlamydia trachomatis* e a não detecção de *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis* são equivalentes a um estudo feito em Buenos Aires, Argentina, mesmo se tratando de classes sócio-econômicas diferentes. ⁽¹¹⁾ A ausência de *N. gonorrhoeae* confirma a diminuição da endemia gonocócica, constante nos últimos vinte anos nos países em desenvolvimento (BATOLOMEO, 2002). Estudos na Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, apontam a diminuição de *T. vaginalis* no decorrer das últimas quatro décadas (de 17.3% em 1978 para 3,4% em 1998), atribuindo isso à introdução da terapêutica com Metronidazol e melhorias nas condições de higiene (ADAD, 2001). A taxa de detecção encontrada para *C. trachomatis* é diferente da descrita nos Estados Unidos, onde é considerada como doença sexualmente transmissível em expansão (MUCH, 1991). Uma possível explicação para a baixa incidência de *C. trachomatis* é a mesma dada por PARSONS, em sua pesquisa, a elevada média de idade (33 anos), já que a infecção por este patógeno é mais comum em mulheres jovens. Em nosso estudo a idade média da população foi 35,9 anos, enquanto que os 3 casos de infecção por *C. trachomatis* aqui relatados tinham idade abaixo da média (26, 27 e 28 anos).

A relação da clínica da paciente com a identificação dos microrganismos deve ser levada em consideração, já que existe uma alta incidência de *U. urealyticum*, *M. hominis*, VB, e *Candida* spp em portadoras assintomáticas, e ainda há dúvidas da significância de encontrar tais microrganismos nesses casos (PRIESTLEY, 1997).

CONCLUSÕES

O microrganismo mais freqüente foi *Ureaplasma urealyticum*, seguido por *Streptococcus agalactiae* e *Candida* spp. Os microrganismos mais isolados foram *Streptococcus agalactiae*, seguido de *Candida* spp e *Ureaplasma urealyticum*. Isso fortalece a necessidade de se oferecer uma rotina laboratorial específica no diagnóstico de *Mico-*

plasma hominis e *Ureaplasma urealyticum* no trato genital feminino; a freqüência de estreptococo do grupo B em mulheres de uma forma geral reforça a importância do uso de um meio seletivo para sua identificação em gestantes. A alta incidência genital de *C. albicans* em relação a outras espécies de *Candida* spp, coloca em dúvida a necessidade da realização, na rotina laboratorial de, de antifungograma e a identificação da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAD, S.J. – Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida* sp and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. *Disciplines of Special Pathology, Gynecology and Obstetrics, and Cytopathology Service, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brazil*. Sao Paulo Med J/Rev Paul Med 2001;119(6):200-5.
- ALISON CLEGG, MEGAN PASSEY, MITION YOANNES, AND AUDREY MICHAEL; High Rates of Genital Mycoplasma Infection in the Highlands of Papua New Guinea Determined Both by Culture and by a Commercial Detection Kit, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Jan. 1997, p. 197–200.
- BARNES, R. C. – Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Sexually Transmitted Diseases Laboratory Program. Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia 30333. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, Apr. 1989, p. 119-136.
- BATOLOMEO Susana Di, FERMEPIN Marcelo Rodriguez, SAUKA Diego H, TORRES Ramón Alberto de, Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina, *Rev Saúde Pública* 2002;36(5):545-52.
- BORGER Irina Lermontov, D'OLIVEIRA Rachel Elise Cerqueira, CASTRO Angela Christina Dias de, MONDINO Silvia Susana Bona de, *Streptococcus agalactiae* in pregnant women: prevalence of colonization and antimicrobial susceptibility evaluation, *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005; 27(10): 575-9.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *MMWR* 2002;51 (No. RR-11):[16-18].
- DE´GRANGE S., RENAUDIN H., CHARRON A., BE´BE´AR C., and BE´BE´AR C. M., "Tetracycline Resistance in *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis*: Prevalence in Bordeaux, France, from 1999 to 2002 and Description of Two tet(M)-Positive Isolates of *M. hominis* Susceptible to Tetracyclines", *Laboratoire de Bactériologie EA 3671, Université Victor Segalen Bordeaux 2 and CHU de Bordeaux, 146 rue Le´o Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France*, *ANTIMICROBIAL AGENTS AND HEMOTHERAPY*, Feb. 2008, p. 742–744.
- DÍAZ Tulia M. y NIEVES Beatriz M., Comparación de medios de cultivos y procedimientos para detectar colonización por *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas, *Rev Chil Infect* 2008; 25 (2): 108-113.

- DOMINGUES, D.; NOGUEIRA, F.; TAVIRA, L.; EXPOSTO, F. MICOPLASMAS, Que papel nas Infecções Humanas? Unidade de Doenças Sexualmente Transmitidas. Instituto de Higiene e Medicina Tropical Lisboa, Acta Med Port 2005; 18: 377-384.
- EGAWA Tsuyoshi, MORIOKA Ichiro, MORISAWA Takeshi, YOKOYAMA Naoki, NAKAO Hideto, OHASHI Masanobu, and MATSUO Masafumi "Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis Presence in Umbilical Cord is Associated with Pathogenesis of Funisitis", Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe 650-0017, Japan1, Department of Neonatology, Kobe Children's Hospital Perinatal Center, Kobe 654-0081, Japan2; Department of Obstetrics, Kobe Children's Hospital Perinatal Center, Kobe 654-0081, Japan3, Kobe J. Med. Sci., Vol. 53, No. 5, pp. 241-249, 2007.
- ESCHENBACH DA. History and review of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 1993;169:441-5.
- IAVAZZO Christos, VOGIATZI Christine, FALAGAS Matthew E. 1,3, A retrospective analysis of isolates from patients with vaginitis in a private Greek obstetric/gynecological hospital (2003-2006), Med Sci Monit, 2008; 14(4): CR228-231.
- MADHIVANAN P., KRUPP K., CHANDRASEKARAN V., KARAT C., ARUN A., COHEN CR, REINGOLD AL, KLAUSNER JD; PREVALENCE AND CORRELATES OF BACTERIAL VAGINOSIS AMONG YOUNG WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE IN MYSORE, INDIA; Indian Journal of Medical Microbiology, 2008, 26(2): 132-7.
- MARTÍNEZ Javier y ALBRECHT Cristina, Sensibilidad al fluconazol y a La anfotericina B en cepas de Candida provenientes de aislamientos clínicos, Rev Iberoam Micol 1998; 15: 298-299.
- MENDIRATTA D.K.; RAWAT V.; CHAURVEDI P.; CHHABRA S.; NARANG P.; "CANDIDA COLONIZATION IN PRETERM BABIES ADMITTED TO NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT IN THE RURAL SETTING", Indian Journal of Medical Microbiology, 2006 - 24(4): 263-7.
- MIURA, E; MARTIN, M. C. GROUP B STREPTOCOCCAL NEONATAL INFECTIONS IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 2001.
- MONEY, D. The laboratory diagnosis of bacterial vaginosis. Can J Infect Dis Med Microbiol 2005;16(2):77-79.
- MUCH David H., PhD SZE-YA YEH, MD, "Prevalence of Chlamydia trachomatis Infection in Pregnant Patients", September-October 1991, Vol. 106, No. 5-493.
- NG, L.K.; Martin, I.E. The laboratory diagnosis of Neisseria gonorrhoeae. Can J Infect Dis Med Microbiol 2005;16(1):15-25.
- OLIVEIRA Fabíola Araújo, PFLEGER Viola, LANG Katrin, HEUKELBACH Jörg, MIRALLES Iracema, FRAGA Francisco, SOUSA Anastácio Queiroz, MEILICKE Marina Stoffler, IGNATIUS Ralf, KERR Ligia Franco Sansigolo, FELDMEIER Hermann, Sexually transmitted infections, bacterial vaginosis, and candidiasis in women of reproductive age in rural Northeast Brazil: a population-based study, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 102(6): 751-756, September 2007.
- PARSONS Wanda L, GODWIN Marshall, ROBBINS Carl, BUTLER Roger, Prevalence of cervical pathogens in women with and without inflammatory changes on smear testing, BMe199331:1173-4.
- PIROTTA Marie V. and GARLAND Suzanne M., Genital Candida Species Detected in Samples from Women in Melbourne, Australia, before and after Treatment with Ant
- PHILLIPS, I. ; HUMPHREY, D.; MIDDLETON, A.; NICOL, C. S. ; Diagnosis of gonorrhoea by culture on a selective medium containing vancomycin, colistin, nystatin and trimethoprim (VCNT) A comparison with Gram-staining and Immunofluorescence.
- PRIESTLEY C J F, MJONES B, DHAR J, GOODWIN Linda, What is normal vaginal flora?, Genitourin Med 1997;73:23-28.
- RODRÍGUEZ Rubí, HERNÁNDEZ Rafael, FUSTER Fátima, TORRES Álvaro, PRIETO Pedro y ALBERTO José, "Infección genital y esterilidad", Facultad de Medicina. Facultad de Psicología. Universidad de La Laguna. Hospital Universitario de Canarias. Tenerife. España, Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 261-266.
- SPIEGEL Carol A., tt AMSEL Richard, HOLMES AND King K., Diagnosis of Bacterial Vaginosis by Direct Gram Stain of Vaginal Fluid, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, July 1983, P. 170-177.
- SPIEGEL, C. A. Bacterial Vaginosis, Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin 53792-0001. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Oct. 1991, p. 485-502.
- STILLOVA A Lucia, STRECHOVA A Zuzana, MATASOVA A Katarina, KOLAROVSKA A Hana, BODOVA B Kristina, STILLAC Juraj, ZIBOLEN Mirko, POSTNATAL PENICILLIN PROPHYLAXIS OF EARLY-ONSET GROUP B STREPTOCOCCAL INFECTION IN TERM NEWBORNS: A PRELIMINARY STUDY, Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2007, 151(1):79-83.
- TOKYOLIC igdem, AKTEPE Orhan Cem 2, CEVRIOG Arif Serhan lu3, MUSTAFA Altindis,2 and FATMA Hu sniye Dilek, Bacterial vaginosis: comparison of Pap smear and microbiological test results, 1Department of Pathology; 2Department of Microbiology and 3Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyon, Turkey; Modern Pathology (2004) 17, 857-860.
- VERMITSKY John-Paul,1,3 SELF Matthew J.,1,3 CHADWICK Sean G.,1,3 TRAMA Jason P.,2,3 ADELSON Martin E.,3 MORDECHAI Eli,3 and GYGAX Scott E. 1,3*, Survey of Vaginal-Flora Candida Species Isolates from Women of Different Age Groups by Use of Species-Specific PCR Detection, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2008, p. 1501-1503.