

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL  
CAMPUS PASSO FUNDO  
CURSO DE MEDICINA**

**CAMILA SANTOS ROCHA**

**PREVALÊNCIA DE *CANDIDA* SPP. NA MICROBIOTA VAGINAL DE  
MULHERES ATENDIDAS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

**PASSO FUNDO-RS**

**2022**

**CAMILA SANTOS ROCHA**

**PREVALÊNCIA DE *CANDIDA SPP.* NA MICROBIOTA VAGINAL DE  
MULHERES ATENDIDAS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso apresentado como requisito parcial  
para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina da  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo  
Fundo-RS.

Orientador: Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jossimara Poletini

**PASSO FUNDO-RS**

**2022**

### **Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Rocha, Camila Santos

Prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS) / Camila Santos Rocha. -- 2022.

71 f.:il.

Orientador: Doutor Amauri Braga Simonetti

Co-orientadora: Doutora Jossimara Polettini

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Medicina, Passo Fundo, RS, 2022.

1. Candidíase vulvovaginal. 2. Infecção fúngica. 3. PCR em tempo real. 4. Infecções vaginais por leveduras. I. Simonetti, Amauri Braga, orient. II. Polettini, Jossimara, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

**CAMILA SANTOS ROCHA**

**PREVALÊNCIA DE *CANDIDA SPP.* NA MICROBIOTA VAGINAL DE  
MULHERES ATENDIDAS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo-RS.

Este Trabalho de Curso foi defendido e aprovado pela banca em 23/11/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti – UFFS  
Orientador

---

Prof<sup>ª</sup>. Me. Andreia Jacobo-UFFS  
Avaliador

---

Prof. Dr. Gustavo Olszanski Acrani-UFFS  
Avaliador

Dedico este trabalho aos meus pais que fizeram do meu sonho o deles e que caminham ao meu lado trilhando essa história.

*“Construirás os labirintos  
impermanentes que sucessivamente  
habitarás. Somos sempre um pouco  
menos do que pensávamos. Raramente,  
um pouco mais.”*

(Cecília Meireles)

## APRESENTAÇÃO

O presente Trabalho de Curso (TC) conta como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina. Tal trabalho, elaborado pela acadêmica Camila Santos Rocha com a orientação do Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti e coorientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jossimara Polettini, tem como título “Prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS)”. O objetivo principal foi determinar a prevalência de *Candida* spp. pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). Durante o segundo semestre letivo de 2021 foi desenvolvido o projeto de pesquisa, que serviu como método de avaliação para o componente curricular (CCr) Trabalho de Curso I. O relatório de pesquisa foi elaborado no primeiro semestre de 2022, no CCr Trabalho de Curso II. Por fim, no CCr Trabalho de Curso III, foi desenvolvido o artigo científico. Tal estudo foi desenvolvido utilizando-se amostras coletadas no Ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e elaborado de acordo com o Manual de Trabalhos Acadêmicos e com o Regulamento de Trabalho de Curso.

## RESUMO

A *Candida* spp. é um gênero de fungos hospedeiros da pele, trato gastrointestinal e mucosa genital que podem modificar seus fatores de virulência e provocar doenças, como a candidíase vulvovaginal. A fim de avaliar a prevalência deste micro-organismo, realizou-se a detecção da *Candida* em amostras de conteúdo vaginal de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), no ambulatório de especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Objetivou-se com esse estudo descrever a prevalência da infecção vaginal por *Candida* spp. no município de Passo Fundo-RS, bem como os sintomas clínicos associados à infecção/colonização por esse fungo. Para isso, o método empregado no estudo foi epidemiológico, quantitativo, do tipo observacional, transversal, descritivo e analítico que foi realizado no período de agosto de 2021 a setembro de 2022 com mulheres não gestantes de idade entre 25 e 64 anos, selecionadas de forma não probabilística e por conveniência, atendidas no Ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). Foi considerada como variável dependente a positividade para *Candida* spp. na reação de qPCR, e como variáveis independentes foram selecionadas: idade, tabagismo, uso de preservativo, método contraceptivo, história prévia de vaginose bacteriana ou candidíase. Em uma segunda análise, considerou-se a positividade de *Candida* no qPCR como variável independente e as queixas clínicas e presença de esporos e/ou hifas visualizadas sob microscopia óptica como variáveis dependentes. A análise da relação entre as variáveis foi feita pelo do Teste de Qui-quadrado e o Teste Exato de Fisher, com nível de significância de 5%. Referente aos resultados obtidos, foram incluídas no estudo 144 participantes, com faixa etária prevalente entre 18 e 45 anos (51,4%), com escolaridade menor ou igual a 9 anos de estudo, que possuem algum emprego e que residem em municípios do Rio Grande do Sul diferentes da cidade de Passo Fundo. Referente aos hábitos comportamentais e antecedentes clínicos, prevaleceu mulheres que não fumam ou são ex-tabagistas e que fazem uso de algum método contraceptivo. A positividade para *Candida* spp. na qPCR foi de 26,4%. Concluiu-se, portanto, que a prevalência da infecção por *Candida* spp. é alta e possui como principais sintomas o prurido, a leucorreia e a dispareunia. Os principais fatores relacionados à presença do fungo estão relacionados ao uso de métodos contraceptivos e a presença de diabetes mellitus.

**Palavras-chave:** Candidíase vulvovaginal; Real time PCR; Candidíase; Infecções vaginais por leveduras.



## ABSTRACT

*Candida* spp. is a genus of host fungi of the skin, gastrointestinal tract and genital mucosa that can modify their virulence factors and cause diseases such as vulvovaginal candidiasis. In order to assess the prevalence of this microorganism, *Candida* was detected in samples of vaginal contents from women assisted by the Unified Health System (SUS), at the specialty outpatient clinic of the Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). The objective of this study was to describe the prevalence of vaginal infection by *Candida* spp. in the city of Passo Fundo-RS, as well as the clinical symptoms associated with infection/colonization by this fungus. For this, the method used in the study was epidemiological, quantitative, observational, cross-sectional, descriptive and analytical, which was carried out from August 2021 to September 2022 with non-pregnant women aged between 25 and 64 years, selected in a non-probabilistic and for convenience, attended at the Specialty Outpatient Clinic of the Federal University of Fronteira Sul in partnership with the São Vicente de Paulo Hospital (HSVP). Positivity for *Candida* spp. was considered as a dependent variable. In the qPCR reaction, and as independent variables were selected: age, smoking, condom use, contraceptive method, previous history of bacterial vaginosis or candidiasis. In a second analysis, we considered *Candida* positivity in qPCR as an independent variable and clinical complaints and presence of spores and/or hyphae visualized under light microscopy as dependent variables. The analysis of the relationship between the variables was performed using the Chi-square test and Fisher's exact test, with a significance level of 5%. Regarding the results obtained, 144 participants were included in the study, with a prevalent age group between 18 and 45 years (51.4%), with schooling less than or equal to 9 years of study, who have a job and who reside in municipalities of Rio de Janeiro. Grande do Sul different from the city of Passo Fundo. Regarding behavioral habits and clinical history, women who do not smoke or who are ex-smokers and who use some contraceptive method prevailed. The positivity for *Candida* spp. in qPCR it was 26.4%. It was concluded, therefore, that the prevalence of infection by *Candida* spp. is high and its main symptoms are pruritus, leucorrhoea and dyspareunia. The main factors related to the presence of the fungus are related to the use of contraceptive methods and the presence of diabetes mellitus.

**Keywords:** Candidiasis vulvovaginal; Real time PCR; Candidiasis; Vaginal yeast infection.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	DESENVOLVIMENTO .....	13
2.1	PROJETO DE PESQUISA .....	13
2.1.1	TEMA .....	13
2.1.2	PROBLEMAS.....	13
2.1.3	HIPÓTESES .....	13
2.1.4	OBJETIVOS .....	13
2.1.5	JUSTIFICATIVA .....	14
2.1.6	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1.7	METODOLOGIA.....	19
2.1.8	RECURSOS .....	25
2.1.9	CRONOGRAMA.....	25
2.1.10	REFERÊNCIAS .....	26
2.1.11	ANEXOS .....	31
2.2	RELATÓRIO DE PESQUISA .....	44
2.2.1	Apresentação.....	44
2.2.2	Desenvolvimento.....	44
3	ARTIGO CIENTÍFICO .....	52
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A *Candida* é um fungo que pode ser encontrado na pele, no trato gastrointestinal e nas mucosas, e, em baixas concentrações, pode colonizar a vagina sem provocar sintomas, como parte da microbiota vaginal. No entanto, na vigência de alterações da mucosa vaginal e simbiose de microrganismos, esse fungo pode expressar sua virulência e provocar candidíase vulvovaginal (CVV) (FERRAZA *et al.*, 2005).

A CVV é uma das principais infecções relatadas em consultórios ginecológicos, estima-se que 45% das mulheres adultas tiveram pelo menos um episódio de infecção por *Candida*, sendo a segunda infecção genital mais frequente no Brasil, atrás apenas da vaginose bacteriana (SOBEL, 1985; ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007; MARTIN LOPEZ, 2015). Nesse contexto, foi realizado um estudo que analisou amostras de conteúdo vaginal de 270 mulheres que apresentavam sintomas de candidíase vulvovaginal e 100 mulheres saudáveis e obteve como resultado a prevalência de aproximadamente 35% de leveduras do gênero *Candida*, sendo a mais prevalente dentre essas a espécie *Candida albicans* (67%) e 33% de espécies não-*albicans* (AMEEN *et al.*, 2017).

Dentre as manifestações clínicas da infecção por *Candida*, os sintomas mais relatados são pruridos na vulva, leucorreia e ardor vaginal, presentes de forma concomitante em 50,3% das pacientes (PEREIRA *et al.*, 2021). Diante disso, pode-se classificar a CVV em não complicada, quando as manifestações sintomatológicas ocorrem de forma esporádica e numa frequência menor que três casos por ano, e complicada ou recorrente quando ocorre mais que quatro vezes por ano (PALADINE; DESAI, 2018). Embora não esteja associada a índices de mortalidade, a infecção por *Candida* spp. pode acarretar em um sofrimento substancial devido a intensidade dos sintomas, que pode atrapalhar tanto a vida profissional quando pessoal, alterando a autoestima da paciente (ACHKAR; FRIES, 2010).

O diagnóstico da candidíase é estabelecido pelo estado clínico da paciente associado a resultados laboratoriais. Alguns testes laboratoriais podem ser realizados afim da confirmação do diagnóstico. O teste de exame direto utiliza KOH (hidróxido de potássio) para observar se há leveduras em brotamento. Pode-se também realizar a cultura em ágar para isolar o patógeno e observar sua morfologia e, quando positivos, as colônias da *Candida* se apresentam em coloração branca e homogênea. Outro método também possível de ser realizado é a detecção da *Candida* spp. através da reação em cadeia da polimerase, o PCR (VAN BURIK *et al.*, 1998). A técnica é considerada atualmente um dos métodos mais sensíveis para a detecção de DNA de patógenos em amostras clínicas, devido a amplificação e sequenciamento do DNA do patógeno,

ampliando a possibilidade de detectar a *Candida*, bem como diferenciar o genótipo das espécies do fungo envolvidas na candidíase vulvovaginal, o que justifica ser o método de escolha para análise do presente estudo (SOBEL; AKINS, 2015).

Diante do contexto exposto, fica claro que a infecção por *Candida* spp. é um problema de saúde pública prevalente que implica em diversas consequências na saúde da mulher. Assim sendo, o presente estudo tem como objetivo geral analisar a prevalência dessa infecção em mulheres atendidas por meio do Sistema Único de Saúde.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 PROJETO DE PESQUISA**

#### **2.1.1 TEMA**

Prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de pacientes atendidas em ambulatório de ginecologia do Sistema Único de Saúde (SUS).

#### **2.1.2 PROBLEMAS**

Qual a prevalência de infecção vaginal por *Candida* spp. em mulheres em idade reprodutiva atendidas em ambulatório de ginecologia do Sistema Único de Saúde?

Qual espécie de *Candida* é mais prevalente?

Quais as características sociodemográficas e clínicas associadas a infecção por *Candida* spp.?

Existe concordância entre os resultados de pesquisa de *Candida* spp. através da microscopia e por PCR?

#### **2.1.3 HIPÓTESES**

Estima-se que a prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de mulheres situa-se em torno de 20-35%.

A espécie de maior prevalência é a *Candida albicans*, estimada em aproximadamente 70%.

A faixa etária mais acometida pela candidíase vulvovaginal é entre 30 e 34 anos, com baixa escolaridade e com os sinais e sintomas clínicos de prurido, leucorreia e eritema vulvovaginal e o pH entre 4 e 5.

A concordância entre diagnóstico de *Candida* por microscopia e PCR é de 94%

#### **2.1.4 OBJETIVOS**

##### **2.1.4.1 OBJETIVOS GERAIS**

Determinar a prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

#### 2.1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar as espécies mais prevalentes na infecção por *Candida* spp.

Caracterizar sociodemográfica e clinicamente as mulheres submetidas a detecção de *Candida* spp. na microbiota vaginal.

Descrever os sinais e sintomas mais frequentemente referidos pelas mulheres submetidas a pesquisa de detecção de *Candida* spp. na microbiota vaginal.

Verificar qual a concordância da pesquisa da *Candida* spp. por microscopia e por PCR.

#### 2.1.5 JUSTIFICATIVA

A pesquisa da *Candida* spp. é de grande relevância devido a alta prevalência de infecção nos hospedeiros humanos, bem como pela sintomatologia clínica expressa durante o processo infeccioso (SILVA *et al.*, 2019).

Adicionado a isso, os estudos sobre a prevalência da *Candida* spp. no Brasil são, além de escassos, pesquisas antigas, que já não condizem com o atual cenário epidemiológico desses fungos. Ademais, o uso crescente e indevido de antifúngicos, muitas vezes sem o diagnóstico clínico, bem como tratamento incompleto ou inadequado tem contribuído para aumento dos casos e maior resistência fúngica. Dessa forma, os resultados da pesquisa podem auxiliar a definir o perfil clínico das infecções por *Candida* no município de Passo Fundo-RS. Assim sendo, a realização desse estudo é justificada pelo objetivo de investigar a prevalência da *Candida* e a clínica associada a infecção, a fim de beneficiar as mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS), tanto no seu diagnóstico quanto no tratamento da doença.

#### 2.1.6 REFERENCIAL TEÓRICO

##### 2.1.6.1 Aspectos microbiológicos e fisiopatológicos da infecção por *Candida* spp.

A *Candida* é um fungo que compõe a microbiota normal e coloniza regiões como a pele e os tratos gastrointestinal e genital. Todas as espécies de *Candida* são leveduras que se reproduzem por brotamento e formam pseudo-hifas (com exceção da *C. glabrata*). Existem numerosas espécies de *Candida*. As manifestações clínicas causadas pela infecção podem variar desde sintomas localizados na mucosa afetada à doença disseminada, sendo esta última mais comum em pacientes com imunodepressão. Assim sendo, alterações no sistema imunológico podem influenciar na virulência destes fungos, resultando em uma reprodução

aumentada que produz sintomatologia característica da candidíase (HOLLENBACH, 2008; MARR, 2016; GOLDMAN; SCHAFER, 2018).

A microbiota vaginal normal possui mecanismo para manter a acidez adequada (pH 4,5), o que dificulta a proliferação de micro-organismos patogênicos. No entanto, o ambiente ácido é ótimo para a proliferação da *Candida* (VAL; ALMEIDA FILHO, 2001). A candidíase vulvovaginal ocorre por desequilíbrios biológicos do ecossistema vaginal, em que o fungo (comensal em cerca de 25% das mulheres) se prolifera de maneira patológica, causando reação inflamatória e, conseqüentemente, a sintomatologia da doença (GARDELLA; ECKERT; LENTZ, 2017). Como resposta inicial do sistema imune, no local colonizado ocorre a destruição por neutrófilos, macrófagos e monócitos, que executam uma função antifúngica ao expressar seus receptores de quimiocina. Posteriormente essa ação é potencializada pela presença de anticorpos, componentes do sistema complemento e linfócitos (GOLDMAN; SCHAFER, 2018).

#### 2.1.6.2 Quadro clínico, fatores de risco e coinfeções

A candidíase vulvovaginal é a segunda infecção genital mais prevalente no Brasil, atrás apenas da vaginose bacteriana, se revelando um importante problema na saúde da mulher. Os sintomas clínicos mais clássicos causados pela infecção por *Candida* são pruridos, eritema, hiperemia e leucorreia. O corrimento é de aspecto branco leitoso, espesso e inodoro. Frequentemente esses sintomas são acompanhados por disúria e sensação de queimação. Esses sinais infecciosos podem se intensificar no período pré-menstrual devido à redução do pH vaginal, favorecendo ainda mais a proliferação da *Candida* (ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007). Estes sintomas clínicos são essenciais para a definição do diagnóstico da candidíase vulvovaginal. Entretanto, não é possível distinguir se os sinais causados pela infecção são por espécies de *Candida albicans* ou não-*albicans* apenas pela sintomatologia (HOLANDA *et al.*, 2007).

Existe, naturalmente, um equilíbrio na microbiota vaginal normal que possui o fungo *Candida* como hospedeiro, mas sem provocar os sintomas patogênicos. No entanto, podem ocorrer alterações fisiológicas e comportamentais que alteram esse equilíbrio e favorecem a reprodução e o desenvolvimento da levedura. Assim sendo, a candidíase vulvovaginal é com frequência atribuída a fatores que alteram o ambiente vaginal (SOBEL, 2014). Nesse sentido, um importante fator de risco para o desenvolvimento da candidíase vulvovaginal é a gravidez, devido à alta incidência da doença em gestantes, principalmente no terceiro trimestre. Tal fato

ocorre principalmente pela desregulação hormonal do período, que ocasiona no aumento do glicogênio disponível na microbiota e favorece a reprodução e crescimento da *Candida*. O uso de anticoncepcionais orais também é considerado um fator de risco para o desenvolvimento do fungo, pois, altas concentrações de estrogênio aumentam a adesão da *Candida* as células epiteliais da vagina, além de estimular a formação de micélios do fungo (SOBEL, 2014). Outra característica que também contribui no desenvolvimento da infecção é a presença de diabetes mellitus não controlada. Isso ocorre devido ao aumento dos níveis de glicose na mucosa genital, que favorece a adesão e o crescimento do fungo. Assim, as células do epitélio vaginal aderem com maior facilidade a *Candida* em pacientes diabéticas do que em mulheres que não possuem a doença (RODRIGUES; RODRIGUES; HENRIQUES, 2019).

O uso de antibióticos também é frequentemente relatado como um fator predisposto para o desenvolvimento da infecção por *Candida* spp., como resultado da eliminação da microbiota bacteriana normal da vagina que fornece proteção contra a proliferação de outros patógenos (GONÇALVES *et al.*, 2016). Adicionado a isso, pacientes imunodeprimidos também possuem maior propensão a desenvolver a infecção fúngica, já que sua resposta imune não é suficiente para impedir a proliferação da *Candida* (RICHARDSON; RAUTEMAA, 2009).

Ademais, pode ocorrer a presença de outros patógenos adicionados a infecção por *Candida*, gerando uma coinfeção. Na microbiota vaginal normal, a *Candida* e as bactérias hospedeiras realizam interações que controlam a proliferação patogênica, estabelecendo uma relação comensal (PELEG; HOGAN; MYLONAKIS, 2010). Assim sendo, estudos sugerem que as bactérias da microbiota vaginal inibem a proliferação da *Candida* por meio de competição pelos sítios de adesão das células epiteliais da vagina. Além disso, substâncias bactericidas secretadas pelos Lactobacilos também tendem a impedir a transição da *Candida* de levedura para hifas, controlando o crescimento excessivo e a ocorrência de infecção (BORIS; BARBÉS, 2000). Nesse contexto, devido a alterações imunológicas e hormonais, pode ocorrer o desequilíbrio da microbiota vaginal e ambos os patógenos se proliferarem, ocasionando uma vaginite mista na qual tanto a bactéria quanto o fungo expressam os sintomas clínicos da infecção. Entretanto, diferente da infecção somente por *Candida* cujo pH ótimo situa-se entre 4-5 para proliferação, na coinfeção com bactérias o pH invariavelmente é elevado (>4,5) (MARDH *et al.*, 1998; SOBEL *et al.*, 2013). Nesse sentido, foi realizado um estudo com mulheres atendidas em um departamento de emergência a fim de determinar a frequência de coinfeções vaginais por *Candida*, *Trichomonas vaginalis* e vaginose bacteriana. Como



resultado, foi encontrada uma prevalência de 0,8% de coinfeção por *Candida* e vaginose bacteriana, 0,1% por *Candida* e *Trichomonas vaginalis* concomitantemente e 0,1% das pacientes estudadas foram diagnosticadas com infecção simultânea pelos três patógenos, *Candida*, *Trichomonas vaginalis* e vaginose bacteriana (ELKINS; CANTILLO-CAMPOS; SHEELE, 2020).

#### 1.1.1.1 Epidemiologia

As informações sobre a incidência e prevalência da infecção por *Candida* spp. ainda são escassas, principalmente, devido a candidíase vulvovaginal não ser uma doença de notificação compulsória. Nesse contexto, estima-se que cerca de 75% de todas as mulheres passaram ou passarão por pelo menos um episódio de candidíase vulvovaginal durante sua idade reprodutiva (SOBEL, 2007; ACHKAR; FRIES, 2010).

A prevalência de candidíase vulvovaginal nas mulheres varia conforme os locais e populações estudadas. Um estudo realizado na Espanha, demonstrou que a prevalência de *Candida* spp. foi de 25,7%, sendo *Candida albicans* a espécie mais prevalente (AROCA *et al.*, 2020).

Já em países africanos, como a Nigéria, a prevalência de *Candida* spp. foi, de 48% e, dentre estas, a espécie mais prevalente foi a *Candida albicans* (76,3%), seguida da *Candida glabrata* (19,3%) (AMOURI *et al.*, 2010).

No Brasil, foi realizado um estudo no Hospital Geral Público Universitário no estado do Mato Grosso, que analisou a prevalência de infecções por *Candida* spp. Como resultado, observou-se que 39,6% das participantes apresentavam a infecção fúngica, cuja faixa etária variava de 16 a 50 anos. Dentre as espécies, a mais prevalente foi a *Candida albicans* (72,9%) (DIAS *et al.*, 2011).

#### 2.1.6.4 Diagnóstico da *Candida* spp.

Além dos dados clínicos, métodos laboratoriais são utilizados para diagnóstico da infecção por *Candida*. Como os sintomas da candidíase vulvovaginal não são específicos dessa infecção, é necessária uma associação de histórico e exame físico a métodos laboratoriais para diagnóstico correto. O sintoma mais específico da infecção por *Candida* é o prurido, mas a ausência dele não exclui o diagnóstico da doença (ECKERT *et al.*, 1998; ANDERSON; KLINK; COHRSSSEN, 2004). As pacientes que possuem os sintomas clássicos da infecção por *Candida* podem ser diagnosticadas pelo exame microscópico do conteúdo vaginal, buscando-

se a presença de hifas fúngicas e a exclusão de outros patógenos como a vaginose bacteriana e a infecção por *Trichomonas vaginalis*, a partir da presença ou ausência das clue cells. Essa análise microscópica é realizada a partir da coleta citológica a fresco, utilizando hidróxido de potássio (KOH) a 10% para a visibilidade da presença de hifas (SOBEL, 2007; ILKIT; GUZEL, 2011;) ou pela metodologia de coloração de Gram, que, embora seja específica para identificação de morfotipos bacterianos, revela as hifas e esporos pelo corante violeta genciana.

Um fator também de extrema importância para o diagnóstico da candidíase vulvovaginal é o pH. A *Candida* se prolifera em meio ácido, sendo o pH ótimo para ocorrência de candidíase vulvovaginal entre 4 e 5 e fator indicativo de infecção pelo fungo. Em contrapartida, um pH maior que 5 geralmente indica patogenicidade por vaginose bacteriana, *Trichomonas vaginalis* ou uma infecção mista por mais de um desses patógenos, onde a *Candida* pode estar presente mesmo com o pH mais elevado (SOBEL, 2007).

Ademais, mesmo com os sintomas clínicos presentes, pode ocorrer um exame microscópico negativo e um pH normal, uma vez que até 50% das pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal podem apresentar microscopia negativa, mesmo com a cultura positiva para *Candida* spp. (ECKERT *et al.*, 1998).

Assim sendo, o padrão ouro para o diagnóstico da candidíase vulvovaginal é a cultura fúngica em Ágar Sabourand Dextrose (ASD), que é um meio ótimo para o crescimento da *Candida* e de outros fungos patogênicos, mas que não permite a diferenciação das colônias de diferentes espécies apenas pelas culturas. Nesse contexto, o diagnóstico correto da infecção fúngica por *Candida* requer uma associação de sintomas clínicos, exame microscópico e cultura vaginal (SOBEL, 2007; ILKIT; GUZEL, 2011).

Por outro lado, a fim de minimizar as limitações que os outros métodos diagnósticos apresentam, pode-se realizar a verificação da presença de *Candida* em amostras por meio de técnicas de biologia molecular, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Esta técnica permite a amplificação do DNA presente na amostra com alta sensibilidade e especificidade para a identificação das espécies de *Candida*, justificando o seu uso para fins diagnósticos (WATERS; SHAPTER, 2014; TARDIF; SCHLABERG, 2017; LYNCH *et al.*, 2019).

#### 2.1.6.5 Tratamento da infecção por *Candida* spp.

O tratamento da candidíase vulvovaginal objetiva extinguir os sintomas da paciente, que por muitas vezes são extremamente incômodos, e pode ser feito tanto por via oral como por uso tópico. O tratamento com antifúngicos é recomendado apenas para mulheres que possuem

sinais e sintomas da infecção por *Candida*. Para pacientes sintomáticas, o tratamento de primeira escolha é o uso de derivados imizadólicos, como o Miconazol creme a 2%, via vaginal, utilizando um aplicador cheio à noite durante 7 dias ou a Nistatina 100.000 UI, via vaginal, à noite por 14 dias. Como fármacos de segunda escolha para o tratamento, recomenda-se o uso de Fluconazol 150mg, via oral, em dose única ou o Itraconazol 100mg, 2 comprimidos via oral, duas vezes ao dia por 1 dia. O tratamento via oral é contraindicado para gestantes e lactantes, podendo ser utilizado apenas as opções de uso tópico, via vaginal (LEAL *et al.*, 2016; BRASIL, 2020).

## **2.1.7 METODOLOGIA**

### **2.1.7.1 Tipo de estudo**

Estudo epidemiológico, quantitativo, do tipo observacional, transversal, descritivo e analítico.

### **2.1.7.2 Local e período de realização**

O estudo será realizado no período de janeiro a dezembro de 2022, no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e no laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, na cidade de Passo Fundo-RS.

### **2.1.7.3 População e amostragem**

O presente estudo será um recorte de um projeto realizado no período de novembro de 2020 a maio de 2022 de título “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”.

A população a ser estudada serão mulheres com idade entre 25 e 64 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização do exame de citologia cérvico-vaginal segundo critérios preconizados pelo Ministério da Saúde para realização do exame ginecológico preventivo de rotina, que recomenda a realização do exame Papanicolau em mulheres entre 25 e 64 anos ou que já tenham dado início as relações sexuais. O Ministério da Saúde também recomenda a realização da coleta de amostra cérvico-vaginal em mulheres que procuram

atendimento por sinais e sintomas de origem ginecológica, como leucorreia, prurido e alterações no fluxo menstrual.

A amostra do estudo é não probabilística e selecionada por conveniência, formada por pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia do SUS da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo (RS) e do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), encaminhadas ao exame ginecológico de rotina, sob registro no sistema SISCAN/SISCOLO. Relativo ao tamanho da amostra a ser analisada, estima-se a participação de 154 pacientes no respectivo estudo. Essa estimativa foi realizada considerando o número de atendimentos do referido ambulatório (n=1000/ano) e a prevalência de infecção por *Candida* spp., que é de 20%, considerando o nível de confiança de 95% (AMEEN *et al.*, 2017).

Critérios de inclusão: serão incluídas no estudo mulheres acima de 25 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina e/ou que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais.

Critérios de exclusão: serão excluídas as amostras de mulheres que estiverem em uso de antibióticos por pelo menos 40 dias e não estiverem em abstinência sexual de pelo menos 72 horas. Além disso, serão excluídas as amostras que não estiverem adequadas para análise, como material biológico ressecado da lâmina do conteúdo vaginal, DNA insuficiente para as análises moleculares e dados sociodemográficos e clínicos incompletos.

#### 2.1.7.4 Variáveis, instrumentos e coleta de dados

As pacientes em consulta no Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) que forem encaminhadas para realização do exame citopatológico (Papanicolau) serão convidadas a participar da pesquisa. As pacientes que concordarem participar do estudo, será entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A) para assinatura. Posterior a isso, as pacientes que possuírem o termo assinado serão entrevistadas pela equipe de pesquisa para coleta de informações por meio de um questionário padronizado desenvolvido para este estudo (Anexo B). Após a entrevista, as pacientes serão atendidas pela equipe médica do ambulatório da UFFS ou HSVP, composta por residentes, médicos preceptores e docentes da instituição. As pacientes serão atendidas e examinadas conforme o protocolo padrão estabelecido para a consulta ginecológica e a realização do exame citológico, esse ocorrerá em sala reservada a fim de garantir a privacidade necessária para a paciente na realização do exame.

Referente às variáveis independentes, serão consideradas: questões sociodemográficas (idade, cor, escolaridade, situação conjugal, renda e hábitos de vida e saúde) e clínicas (dor, leucorreia, amenorréia, dispareunia e prurido) apresentadas no Anexo B. Como variáveis dependentes, serão consideradas: padrão de microbiota e presença de *Candida* spp. detectada por PCR.

#### 2.1.7.5 Protocolos laboratoriais

Para esse estudo será realizada a coleta do conteúdo cérvico-vaginal em meio líquido, a partir do qual será utilizada uma alíquota para análise molecular. O exame especular será realizado empregando-se o espéculo bi-valvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante para afastamento das paredes vaginais. Adicionalmente à coleta tradicional, será coletado conteúdo vaginal para análise de pH, utilizando-se fitas comerciais, e para análise do padrão de microbiota vaginal, através da coloração de Gram. Para esse exame, serão coletadas do terço médio da parede vaginal utilizando-se *swabs* (hastes com pontas de algodão) estéreis para a confecção de esfregaços vaginais em lâminas de vidro em duplicata. Este material será encaminhado ao laboratório de Microbiologia da UFFS para coloração de Gram e a morfologia e padrão da microbiota será determinada através dos critérios de Nugent sendo a classificação da microbiota em normal (escore de 0 a 3), intermediária (escore de 4 a 6) ou vaginose bacteriana (escore de 7 a 10) (NUGENT; KROHN; HILLIER, 1991). Por fim, será realizado o *whiff test*, através da adição de 1 ou 2 gotas de KOH a 10% ao conteúdo vaginal. Esses dados, juntamente com outras informações relevantes dos aspectos clínicos das pacientes serão informados em formulário específico (Anexo B).

Uma alíquota do conteúdo cérvico-vaginal, coletada em meio líquido será utilizado para extração de DNA total e detecção de *Candida* spp. através da técnica de PCR. Esse material, juntamente com as lâminas confeccionadas com o conteúdo vaginal no momento da coleta serão enviados aos laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo. O volume de amostra separado do meio líquido será submetido à centrifugação e coleta do *pellet* celular com subsequente extração de DNA total utilizando-se os reagentes comerciais de purificação de DNA (*Illustra DNA tissue and cells genomicPrep*, GE Healthcare) seguindo as instruções do fabricante. As amostras serão armazenadas a -20°C até sua utilização na detecção de *Candida* spp. através da técnica de PCR., utilizando-se primers específicos. Os primers que serão utilizados foram elaborados com base em sequências disponíveis no GenBank do espaço transcrito interno, utilizando as seguintes sequências: *Candida albicans*

(5'- TCA ACT TGT CAC AGA TTA TT-3'); *Candida glabrata* (5'-CAC GAC TCG ACA CTT TCT AAT T-3') e a *Candida krusei* (5'-GAT TTA GTA CTA CAC TGC GTC A-3'). Ademais, também será utilizado a sequência gênica de um primer universal (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (LI *et al.*,2003)

As reações serão realizadas em volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada primer na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra pesquisada. As incubações serão realizadas em termociclador com os parâmetros específicos para desnaturação, anelamento dos iniciadores e amplificação. Em todas as reações realizadas será utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucléico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA de *Candida* spp..

A eficiência das amplificações será monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 1,5% preparada em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corada com Brometo de Etídio. O tamanho dos produtos amplificados será comparado com o padrão de 50 pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultra-violeta.

Nas amostras positivas para *Candida* spp., os tratamentos serão realizados de acordo com as recomendações propostas pelo CDC. O controle de cura dessas condições será realizado 45 dias após o término do tratamento, por meio de uma nova convocação da paciente para reavaliação dos exames necessários.

#### 2.1.7.6 Processamento, controle de qualidade e análise dos dados

O processamento dos dados obtidos nos questionários e por meio dos resultados dos exames citológico e pela realização do PCR serão duplamente digitados em um banco de dados, desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). Referente a análise, essa será estatística descritiva consistindo no método de distribuição de frequências, apresentando a prevalência das variáveis dependentes (padrão de microbiota e presença de *Candida* spp. detectadas por PCR) e as proporções das variáveis independentes (questões sociodemográficas: idade, cor, escolaridade, situação conjugal, renda e hábitos de vida e saúde; clínicas: dor, leucorreia, amenorréia, dispareunia e prurido). Para a realizar a relação entre as variáveis dependentes com as independentes, será utilizado o Teste do Qui-quadrado. Para isso, esses dados serão exportados para o software PSPP (distribuição livre), no qual será realizado a análise estatística desses dados, que incluem a frequência absoluta e a relativa das variáveis e as medidas de dispersão e de tendência central. Para o Teste de Qui-quadrado, será considerado

o nível de significância estatística de 5% e o intervalo de confiança de 95%. Contudo, caso o número de amostras seja pequeno, será empregado o uso do Teste Exato de Fisher. Será analisado também quais as espécies de *Candida* spp. mais prevalentes nas amostras positivas para o fungo, por meio da técnica de PCR, que utilizará os primers específicos das espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida krusei* para a análise. Ademais, também será analisada a comparação entre os resultados positivos de *Candida* spp. obtidos pela microscopia com os obtidos pelo PCR e, para essa análise, também será utilizado o Teste de Qui-quadrado.

#### 2.1.7.7 Aspectos éticos

O projeto do qual esse estudo faz parte, intitulado como “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da UFFS e foi aprovado sob parecer de número 3.736.932 (Anexo C) atendendo ao que é estabelecido na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, em conjunto com o termo de ciência e concordância das instituições responsáveis pela administração do ambulatório da UFFS, que são o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e Direção do Campus Passo Fundo da UFFS. As pacientes que forem convidadas a participar do estudo, será apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE (Anexo A), e caso haja concordância em participar, o mesmo deverá ser assinado e entregue a equipe de pesquisa para o prosseguimento do estudo.

Referente aos riscos que as pacientes participantes do estudo estarão expostas, estes estão relacionados ao processo de coleta para o exame citológico. Nesse sentido, pode ocorrer desconforto durante a coleta, bem como tontura e mal-estar e possível constrangimento. A fim de minimizar esses riscos, a coleta será realizada por profissionais capacitados e em ambiente reservado, para garantir toda a assistência necessária antes, durante e após o procedimento, bem como para preservar a privacidade da paciente. Como exemplo, caso alguma paciente tenha um episódio de tontura, essa será deitada e terá sua pressão arterial aferida e acompanhada até a normalização do episódio e, caso necessário, será encaminhada a um atendimento médico. Assim sendo, caso ocorra alguma intercorrência e um desses riscos aconteça, serão aplicadas medidas de atendimento e suporte às pacientes e, se necessário, encaminhamento a um setor de atendimento.

Relativo à entrevista das pacientes e aplicação do questionário, a fim de evitar constrangimentos e resistência para com algumas perguntas, estes serão realizados por

acadêmicos previamente orientados e sob supervisão dos demais profissionais da saúde envolvidos no atendimento.

Outro possível risco envolvido no estudo é a divulgação de dados de identificação das pacientes. A fim de atenuar os riscos de quebra de sigilo da pesquisa, os dados de identificação pessoais das pacientes como nomes e números de documentos de identidades não constarão em nenhum documento. Para garantir o sigilo da pesquisa, na divulgação dos resultados as variáveis relacionadas às pacientes serão substituídas por números, de forma que não contenha nenhuma informação divulgada que seja passível de identificar as participantes relacionadas. A planilha eletrônica na qual os dados serão inseridos será manipulada em único computador que estará sob a responsabilidade da equipe de pesquisa e, caso algum dos riscos expostos se concretize, o estudo será imediatamente interrompido.

Referente aos benefícios que o presente estudo apresenta, o principal deles é que o estudo da *Candida* spp. não é feito nos exames citológicos tradicionais fornecidos pelo Sistema Único de Saúde. Nesse viés, as participantes só teriam acesso a esses resultados caso o exame citológico fosse realizado na rede privada. Assim sendo, este estudo proporcionará as participantes um diagnóstico precoce e específico, que permitirá intervenções prematuras que minimizarão complicações que poderiam ocorrer com o diagnóstico tardio da infecção. Ademais, como o público atendido no ambulatório abrange diversos grupos sociais, o presente estudo pode fornecer a pacientes financeiramente carentes um rastreio por meio de testes de alta tecnologia que talvez elas talvez não tivessem acesso.

No que diz respeito a devolutiva às pacientes dos resultados obtidos na pesquisa, esta ocorrerá por meio da consulta de retorno no ambulatório. Para as instituições envolvidas no estudo, essa devolutiva ocorrerá por meio de publicações científicas, na qual uma cópia física impressa em papel deverá ser entregue as instituições.

É de grande relevância destacar que o sigilo dos dados coletados nos questionários respondidos pelas pacientes para o estudo é um compromisso da equipe de pesquisa. Esses dados serão mantidos em local seguro e de acesso restrito e, após o término do estudo, deverão ser guardados por mais cinco anos. Após esse período, eles serão totalmente destruídos de forma que não reste nenhum dado sigiloso que possa facilitar a identificação de alguma participante da pesquisa. Os arquivos digitais contendo os dados coletados serão deletados do computador de forma definitiva. O material biológico coletado será descartado posterior às análises seguindo os protocolos de segurança estabelecidos para descarte de resíduos biológicos.



## 2.1.8 RECURSOS

**Tabela 1: Orçamento**

Itens	Quantidade	Custo unitário (R\$)	Custo total (R\$)
Canetas	15	R\$ 1,30	R\$ 19,50
Pranchetas	5	R\$ 6,50	R\$ 32,50
Lápis	3	R\$ 1,00	R\$ 3,00
Borrachas	2	R\$ 0,90	R\$ 1,80
Apontadores	1	R\$ 3,50	R\$ 3,50
Lâminas de Gram	300	R\$ 1,50	R\$ 450,00
Fita de pH	300	R\$ 3,00	R\$ 900,00
PCR	300	R\$ 18,00	R\$ 5.400
<b>TOTAL</b>			<b>R\$6.810,30</b>

Fonte: elaborado pela autora,2021.

As despesas elencadas na Tabela 1 serão subsidiadas por meio de recursos provenientes de fomento captado no edital nº 459/GR/UFGS/2019 (Fomento à pesquisa com ênfase no fortalecimento dos programas de pós-graduação *stricto sensu* da UFGS) e complementados com os recursos da equipe de pesquisa.

## 2.1.9 CRONOGRAMA

Período de realização do estudo: 03/01/2022 a 16/12/2022

Levantamento e atualização bibliográfica: 03/01/2022 a 16/12/2022

Coleta de material e de dados clínicos: 03/01/2022 a 29/07/2022

Processamento laboratorial (extração de DNA, PCR): 01/08/2022 a 30/09/2022

Análise dos dados: 01/08/2022 a 30/09/2022

Escrita e divulgação dos resultados: 01/08/2022 a 16/12/2022

## 2.1.10 REFERÊNCIAS

ACHKAR, Jacqueline M.; FRIES, Bettina C.. **Candida Infections of the Genitourinary Tract**. *Clinical Microbiology Reviews*, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 253-273, abr. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00076-09>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.00076-09>. Acesso em: 23 set. 2021.

AMEEN, Fuad *et al.* **Identification of Candida species in vaginal flora using conventional and molecular methods**. *Journal de Mycologie Médicale*. [S.L.], v. 27, n. 3, p. 364-368, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.04.105>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1156523317300252?via%3Dihub>. Acesso em: 23 set. 2021.

AMOURI, Imen Khelif *et al.* **Epidemiological survey of vulvovaginal candidosis in Sfax, Tunisia**. *Mycoses*, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 499-505, 29 out. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01965.x>. Disponível em: <http://cel.webofknowledge.com/InboundService.do?app=wos&product=CEL&Func=Frame&SrcApp=literatum&SrcAuth=atyponcel&locale=ptBR&SID=6FqVfDM7TFIJ8ls99oi&customersID=atyponcel&smartRedirect=yes&mode=FullRecord&IsProductCode=Yes&Init=Yes&action=retrieve&UT=WOS%3A000294878900125#addressWOS:000294878900125-1>. Acesso em: 01 nov. 2021.

ANVISA. **Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Módulo VII. 2004. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicosade/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/microbiologia/mod_7_2004.pdf). Acesso em: 23 set. 2021.

ÁLVARES, Cassiane Aparecida; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivalet; CONSOLARO, Márcia Edilaine Lopes. **Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras**. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*. Rio de Janeiro, p. 319-327. out. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/zv8qWLFBRyXNHkx7QK3Yk/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 08 set. 2021.

ANDERSON, Matthew; KLINK, Kathleen; COHRSEN, Andreas. **Evaluation of Vaginal Complaints**. *Jama*, [S.L.], v. 291, n. 11, p. 1368, 17 mar. 2004. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.291.11.1368>. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/198396>. Acesso em: 25 set. 2021.

AROCA, Jerónimo Jaqueti *et al.* **Epidemiology and etiology of vulvovaginal candidiasis in Spanish and immigrants' women in Fuenlabrada (Madrid)**. *Revista Española de Quimioterapia*, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 187-192, 17 abr. 2020. Sociedad Espanola de Quimioterapia. <http://dx.doi.org/10.37201/req/099.2019>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32304363/>. Acesso em: 01 nov. 2021.

BORIS, Soledad; BARBÉS, Covadonga. **Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens**. *Microbes And Infection*. [S.L.], p. 543-546. abr. 2000. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457900003130?via%3Dihub>. Acesso em: 24 set. 2021.

BRASIL. L 2020. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-com-infeccoes>. Acesso em: 25 set. 2021.

DIAS, Luciana Basili et al. **Vulvovaginal candidiasis in Mato Grosso, Brazil: pregnancy status, causative species and drugs tests.** Brazilian Journal Of Microbiology. [S.L.], p. 1300-1307. dez. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768752/>. Acesso em: 01 nov. 2021.

ECKERT, Linda Oneal *et al.* **Vulvovaginal candidiasis: clinical manifestations, risk factors, management algorithm.** Obstetrics & Gynecology, [S.L.], v. 92, n. 5, p. 757-765, nov. 1998. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). [http://dx.doi.org/10.1016/s0029-7844\(98\)00264-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0029-7844(98)00264-6). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0029784498002646?via%3Dihub#!>. Acesso em: 25 set. 2021.

ELKINS, Justin M. *et al.* **Frequency of Coinfection on the Vaginal Wet Preparation in the Emergency Department.** Cureus. [S.L.], p. 1-9. 19 nov. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33364093/>. Acesso em: 25 set. 2021.

FERRAZZA, Magda Helena S. H. *et al.* **Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 58-63, fev. 2005. FapUNIFESP. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-72032005000200003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/t5rVhVXhCB8YxgsYLpmC8Gj/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 08 set. 2021.

GARDELLA, C.; ECKERT, L. O.; LENTZ, G. M. **Genital tract infections.** In: Comprehensive Gynecology, 7th ed, Lobo RA, Gershenson DM, Lentz GM, Valea FA (Eds), Elsevier, Philadelphia 2017. p.542.

GONÇALVES, Bruna *et al.* **Vulvovaginal candidiasis: epidemiology, microbiology and risk factors.** Critical Reviews In Microbiology, [S.L.], v. 42, n. 6, p. 905-927, 21 dez. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/1040841x.2015.1091805>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/1040841X.2015.1091805?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em: 24 set. 2021.

GOLDMAN, Lee; SCHAFER, Andrew I. GOLDMAN-CECIL MEDICINA. 25. ed. São Paulo: Elsevier, 2018. 2 v.

HOLANDA, Antônio Arildo Reginaldo *et al.* **Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 4-9, jan. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-72032007000100002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/fpN9V6TFhPcqKxLZ8TS4bVL/?lang=pt>. Acesso em: 09 set. 2021

Hollenbach, Eike. **Invasive candidiasis in the ICU: evidence based and on the edge of evidence.** *Mycoses* vol. 51 Suppl 2 (2008): 25-45. doi:10.1111/j.1439-0507.2008.01571.x

HURLEY, Rosalinde. **Recurrent Candida Infection.** *Clinics In Obstetrics And Gynaecology*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 209-214, abr. 1981. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0306-3356\(21\)00060-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0306-3356(21)00060-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306335621000601>. Acesso em: 08 set. 2021.

ILKIT, Macit; GUZEL, Ahmet Baris. **The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective.** *Critical Reviews In Microbiology*, [S.L.], v. 37, n. 3, p. 250-261, 20 maio 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/1040841x.2011.576332>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/1040841X.2011.576332?scroll=top&needAccess=true#>. Acesso em: 25 set. 2021.

LEAL, Mariana Robatto Dantas *et al.* **Tratamento da candidíase vulvovaginal e novas perspectivas terapêuticas: uma revisão narrativa.** *Revista Pesquisa em Fisioterapia*, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 462-469, 25 nov. 2016. Escola Bahiana de Medicina e Saude Publica. <http://dx.doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v6i4.1021>. Disponível em: <https://www5.bahiana.edu.br/index.php/fisioterapia/article/view/1021>. Acesso em: 27 set. 2021.

LI, Yu-Ling *et al.* **Rapid Identification of Yeasts Commonly Found in Positive Blood Cultures by Amplification of the Internal Transcribed Spacer Regions 1 and 2.** *European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, [S.L.], v. 22, n. 11, p. 693-696, 1 nov. 2003. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-003-1020-5>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14557922/>. Acesso em: 26 out. 2021.

MÅRDH, Per Anders *et al.* **Symptoms and signs in single and mixed genital infections.** *International Journal Of Gynecology & Obstetrics*, [S.L.], v. 63, n. 2, p. 145-152, nov. 1998. Wiley. [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7292\(98\)00140-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7292(98)00140-4). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9856320/>. Acesso em: 12 set. 2021..

MARR, Kieren A.. **Fungal Infections After Hematopoietic Cell Transplantation.** *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*, [S.L.], p. 1057-1071, 1 jan. 2016. John Wiley & Sons, Ltd. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118416426.ch86>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118416426.ch86>. Acesso em: 12 set. 2021.

MARTIN LOPEZ, Juliana Ester. **Candidiasis (vulvovaginal).** *BMJ clinical evidence* vol. 2015 0815. 16 Mar. 2015.

PALADINE, Heather L.; DESAI, Urmi A.. **Vaginitis: Diagnosis and Treatment.** *American Family Physician*. [S.L.], p. 321-329. mar. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671516/>. Acesso em: 24 set. 2021.

PELEG, Anton Y.; HOGAN, Deborah A.; MYLONAKIS, Eleftherios. **Medically important bacterial–fungal interactions.** Nature Reviews Microbiology, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 340-349, 29 mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2313>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2313.pdf>. Acesso em: 24 set. 2021.

PEREIRA, Livia Custódio *et al.* **Vulvovaginal candidiasis and current perspectives: new risk factors and laboratory diagnosis by using MALDI TOF for identifying species in primary infection and recurrence.** European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology vol. 40,8 (2021): 1681-1693. doi:10.1007/s10096-021-04199-1. Acesso em: 24 set. 2021.

RODRIGUES, Célia; RODRIGUES, Maria; HENRIQUES, Mariana. **Candida sp. Infections in Patients with Diabetes Mellitus.** Journal Of Clinical Medicine, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 76, 10 jan. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm8010076>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30634716/>. Acesso em: 24 set. 2021.

RICHARDSON, Malcolm; RAUTEMAA, Riina. **How the host fights against Candida infections.** Frontiers In Bioscience-Landmark, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 4363-4375, 01 jan. 2009. Disponível em: <https://www.fbscience.com/Landmark/articles/10.2741/3533>. Acesso em: 24 set. 2021.

SILVA, Thaissa Nicoly Rodrigues *et al.* **Candida spp. de importância médica presente no Igarapé da penal do município de Porto Velho-RO.** South American Journal. Porto Velho, p. 291-298. ago. 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/3009/2053>. Acesso em: 12 set. 2021.

SOBEL, Jack D., AKINS, Robert A. **The Role of PCR in the Diagnosis of Candida Vulvovaginitis—a New Gold Standard?** Curr Infect Dis Rep 17, 33 (2015). <https://doi.org/10.1007/s11908-015-0488-3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26003471/>. Acesso em: 24 set. 2021.

SOBEL, Jack D.. **Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis.** American Journal Of Obstetrics And Gynecology, [S.L.], v. 152, n. 7, p. 924-935, ago. 1985. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9378\(85\)80003-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9378(85)80003-x). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3895958/>. Acesso em: 09 set. 2021.

SOBEL, Jack D.. Genital candidiasis. Medicine, [S.L.], v. 42, n. 7, p. 364-368, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpmed.2014.04.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357303914001078>. Acesso em: 24 set. 2021.

SOBEL, Jack D. *et al.* **Mixed Vaginitis—More Than Coinfection and With Therapeutic Implications.** Current Infectious Disease Reports, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 104-108, 27 jan. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11908-013-0325-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11908-013-0325-5.pdf>. Acesso em: 25 set. 2021.

TARDIF, Keith D.; SCHLABERG, Robert. **Development of a real-time PCR assay for the direct detection of Candida species causing Vulvovaginal candidiasis.** Diagnostic Microbiology And Infectious Disease, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 39-40, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.01.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889317300317?via%3Dihub>. Acesso em: 25 set. 2021.

VAN BURIK, Jo-Anne; MYERSON, David; SCHRECKHISE, Randall W.; BOWDEN, Raleigh A.. **Panfungal PCR Assay for Detection of Fungal Infection in Human Blood Specimens.** Journal Of Clinical Microbiology, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 1169-1175, maio 1998. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.36.5.1169-1175.1998>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/JCM.36.5.1169-1175.1998>. Acesso em: 23 set. 2021.

VAL, Isabel Cc; ALMEIDA FILHO, Gutemberg L. **Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal.** J. Bras. Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro, p. 3-5. abr. 2001. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista13-4-2001/editorial.pdf>. Acesso em: 11 set. 2021.

WATERS, Daniel Lex Ean; SHAPTER, Frances M.. **The Polymerase Chain Reaction (PCR): general methods.** Methods In Molecular Biology, [S.L.], p. 65-75, 31 out. 2013. Humana Press. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-715-0\\_7](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-715-0_7). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24243196/>. Acesso em: 11 set. 2021.

## 2.1.11 ANEXOS

### ANEXO A

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezada Participante,

Você está sendo convidada a participar voluntariamente da pesquisa “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde” desenvolvida por Prof. Dr. Gustavo Olszanski Acrani, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e sua equipe de pesquisa.

O objetivo central desse estudo é avaliar a saúde das mulheres, fazer exames preventivos de câncer de colo de útero, assim como detectar o Vírus Papiloma Humano (HPV) e alterações dos microrganismos vaginais através de exames ginecológicos. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização.

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Esclarecemos também que, apenas os pesquisadores que assinam este documento, terão acesso aos dados das análises de seu exame, e todas as precauções serão tomadas para manter sigilo absoluto sobre seu nome e respectivos dados.

A equipe de pesquisa se compromete em manter o sigilo dos dados coletados dos prontuários das pacientes por meio do Termo de Compromisso Para Uso de Dados em Arquivo. A participação na pesquisa envolve responder um questionário, que levará 05 minutos, em que serão feitas perguntas a respeito de sua saúde. Em seguida será realizado o exame de ginecologia chamado Papanicolau, que será realizado por uma médica da equipe, e consiste em realizar uma raspagem leve no interior da vagina.

Existem riscos relacionados ao estudo, envolvendo um possível leve desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento. Para minimizar estes riscos, o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar você será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista você será encaminhada à assistência médica.

Outro risco possível é ficar constrangida com alguma pergunta que for feita. Para evitar constrangimentos, as perguntas serão feitas por profissionais da área da saúde, e você poderá deixar de responder as perguntas se quiser. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Para minimizar os riscos de quebra de sigilo o seu nome números de documentos de identidade não serão divulgados em nenhum documento. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido.

Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV, alterações de microrganismos vaginais são importantes para esclarecer queixas ginecológicas e, não são ofertados pelo SUS. Além disso, a relação desses exames com o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de

câncer de colo do útero. Você será informada sobre o resultado do exame e será chamada para retorno médico e receberá tratamento caso for detectada alguma alteração no exame.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos, e depois deste período esses dados serão destruídos. A pesquisa será desenvolvida segundo as normas da Resolução no. 466 de 12 de dezembro de 2012.

As informações e os resultados obtidos através das análises laboratoriais, poderão ser utilizados em congressos científicos ou publicados em revistas científicas, asseguramos que jamais revelaremos seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade para que você não seja identificado.

Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Este documento é elaborado em duas vias, que serão devidamente preenchidas, rubricadas todas as páginas e assinadas pelos pesquisadores e por você. Uma via deste documento ficará com os pesquisadores e a outra via ficará com você. O TCLE garante seus direitos como participante da pesquisa e nela está presente o contato e o endereço dos pesquisadores, bem como do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS para quaisquer dúvidas que você venha a ter futuramente.

Eu, (NOME COMPLETO) \_\_\_\_\_ declaro que li (ou tive este documento lido por uma pessoa de confiança) e entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, bem como, tive todos os esclarecimentos que julguei necessários sobre a pesquisa repassados pelos pesquisadores. Portanto opto por livre e espontânea vontade em participar da pesquisa.

Assinatura: \_\_\_\_\_.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS:

Tel e Fax - (049) 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Universidade Federal da Fronteira Sul, Bloco da Biblioteca, Sala 310, 3º andar, Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

Local: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2019

Assinatura: \_\_\_\_\_

Pesquisador Responsável: Gustavo Olszanski Acrani

Contato do Pesquisador Responsável:

Coordenador do Projeto Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) Campus Passo Fundo (54) 3335-8527

e-mail: gustavo.acrani@uffs.edu.br



## ANEXO B

**Instrumento:** Questionário a ser aplicado via entrevista direta com as pacientes na consulta.

QUESTÕES DE IDENTIFICAÇÃO E SOCIODEMOGRÁFICAS	
	NQUES _ _ _ _
Nome do entrevistador	
Data	
Qual é o seu nome completo?	
Você tem telefone para contato? <i>SE NÃO, PERGUNTE SOBRE TELEFONE PARA RECADO E ANOTE DE QUEM É</i>	
Qual é a sua idade? _ _ ANOS COMPLETOS	IDADE _ _
Você se considera de que raça/cor? (1) Branca (2) Preta (3) Parda (4) Indígena (5) Amarela	RACA _
Você sabe ler e escrever? (0) Não (1) Só assina o nome (2) Sim. Quantos anos de estudo, completos e com aprovação, você tem? _ _ anos	LER _  ESCOLA _ _
Em relação à situação conjugal, você: (0) Não tem companheiro (1) Tem companheiro. Há quanto tempo está com o companheiro atual? _____ (EM MESES)	COMPAN _  TEMPCO _ _
No total, quantas pessoas, incluindo você, moram na sua casa? _	MORA _ _
Você exerce atividade remunerada? (0) Não/Aposentado/Pensionista (1) Sim/Em benefício. Trabalha em quê? _____	TRAB _ TIPOT _ _
Qual a renda total das pessoas que moram na sua casa, incluindo você?	RENDA _ _ _ _
Qual sua religião? _____ (0) não tem	RELI _
Você mora em Passo Fundo? (1) Sim. Qual o bairro? _____ (2) Não. Qual cidade? _____	RESID _ BAIRRO _ _ CIDADE _ _

**QUESTÕES SOBRE HÁBITOS DE VIDA E DE SAÚDE**

<p><b>Você sabe seu peso?</b> _____ Kg (0) Não sei</p>	<p>PESO __ __ __</p>
<p><b>Você sabe sua altura?</b> _____ metros (0) Não sei</p>	<p>ALTURA __, __ __</p>
<p><b>Você fuma?</b> (1) Sim (2) Não/ex-fumante</p>	<p>FUMA__</p>
<p><b>Você tem o costume de consumir bebida alcoólica? ÀS VEZES/DE VEZ EM QUANDO, CONSIDERE “SIM”</b> (1) Sim (2) Não</p>	<p>BEBE__</p>
<p><b>Qual foi a idade da sua primeira menstruação?</b> _____ (00) não lembra</p>	<p>IDMENST__ __</p>
<p><b>Qual foi a idade da sua primeira relação sexual?</b> _____ (00) não lembra</p>	<p>IDSEX __ __</p>
<p><b>Você é sexualmente ativo?</b> (0) Não (1) Sim. <b>Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses?</b> _____ <b>Você tem o hábito de usar preservativo/camisinha?</b> (1) Sim, sempre (2) Sim, algumas vezes (3) Não. <b>Você usa algum método para evitar a gravidez?</b> (0) Não (1) Sim. <b>Qual?</b> _____</p>	<p>ATIVO__  PARCE__ __ PRESERVA__  CONTRA__</p>
<p><b>Alguma vez na vida você fez exame ginecológico preventivo?</b> (0) Não. <b>Por que você não fez o exame ginecológico preventivo?</b> _____  (1) Sim <b>Quando fez seu último exame ginecológico preventivo? HÁ</b> _____ <i>MESES</i> (00) mais de 3 anos <b>Qual foi o resultado do seu último exame ginecológico preventivo?</b> (1) Normal (2) Alterado (3) infecção (4) nunca fez/não lembra</p>	<p>PREV__ PQNPREV__  DATAPREV__ __ ULTPREV__</p>
<p><b>Você já engravidou?</b> (1) Sim</p>	<p>GRAVIDA__</p>

<p><b>Quantas vezes ficou grávida?</b> __ __</p> <p><b>Qual foi a idade da primeira gravidez?</b> __ __ anos</p> <p><b>Você tem filhos?</b></p> <p>(0) Não.</p> <p>(1) Sim. <b>Quantos?</b> __ __ filhos</p> <p><b>Você fez parto normal?</b></p> <p>(0) Não</p> <p>(1) Sim. <b>Quantos?</b> __ __</p> <p><b>Você fez parto cesáreo?</b></p> <p>(0) Não</p> <p>(1) Sim. <b>Quantos?</b> __ __</p> <p>Teve alguma complicação nas gestações anteriores?</p> <p>(0) Não</p> <p>(1) Sim. <b>Qual</b> _____</p> <p><b>Já tentou engravidar e não conseguiu?</b></p> <p>(0) Não</p> <p>(1) Sim. <b>Por quanto tempo tentou?</b> _____ (<i>EM MESES</i>)</p> <p><b>Sabe por que não conseguiu engravidar?</b></p> <p>(0) Não</p> <p>(1) Sim. <b>Por quê?</b> _____</p>	<p>NGRAVI __ __</p> <p>IGRAVI __ __</p> <p>FILHO __</p> <p>QFILHO __ __</p> <p>NORMAL __</p> <p>QNORM __ __</p> <p>CESAR __</p> <p>QCESAR __ __</p> <p>COMPLIC __</p> <p>COMPANT __</p> <p>CONS __</p> <p>QCONS __ __</p> <p>SABE __</p> <p>PQNCONS __</p>
<p><b>Alguma vez algum médico lhe disse que você teve:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vaginose bacteriana?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>Candidíase?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>HPV – Papilomavirus Humano?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>Sífilis?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>Alguma outra infecção genital</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra <i>SE SIM, QUAL?</i> _____</li> <li>• <b>Diabetes?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>Pressão Alta</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra</li> <li>• <b>Câncer?</b> (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não</li> </ul>	<p>VB __</p> <p>CANDIDA __</p> <p>HPV __</p> <p>SIFILIS __</p> <p>OUTRAINFEC __</p> <p>QUALINF __</p> <p>DM __</p> <p>HAS __</p> <p>CANCER __</p> <p>LCAN __ __</p>

lembra • <i>SE SIM</i> , em que local do corpo? _____	
<b>Você tomou a vacina para HPV?</b> (1) Sim (2) Não. <b>Por quê?</b> _____	VACIN _____  PQNVAC _____
<b>EXAMES CLÍNICOS</b>	
<b>Queixas:</b> <b>Leucorréia (“corrimento”):</b> (0) Não (1) Sim Tempo: (1) até 7 dias (2) 08-30 dias (3) + 30 dias (4) Não sabe Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe <b>Odor:</b> (0) Não (1) Sim <b>Dor:</b> (0) Não (1) Sim <b>Amenorréia:</b> (1) Sim (2) Não <b>Dispareunia:</b> (1) Sim (2) Não <b>Prurido</b> (1) Sim (2) Não <b>Outra queixa:</b> (1) Sim (2) Não <b>Qual?</b> _____	QLEUCOR__ QTEMPO __ QINTEN __ QASPEC__ QCOR__ QODOR__ DOR ____ AMEN____ DISPAR ____ PRURIDO____ OUTRA ____ QOUTRA __
<b>Exame clínico:</b> Leucorréia: (0) Não (1) Sim Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe <b>Odor</b> (0) Não (1) Sim <b>Vulvite</b> (0) Não (1) Sim <b>Endocervicite</b> (0) Não (1) Sim <b>Ectopia</b> (0) Não (1) Sim <b>Lesão</b> (0) Não (1) Sim <b>Outros</b> _____	ELEUCOR__ EINTEN _ EASPEC__ ECOR__ EODOR__ EVULV__ ENDOC__ ECTO__ ELESO__ EOUTRO__
<b>Exames clínicos:</b> <b>Whiff test:</b> (1) positivo (2) negativo (3) não realizado	WHIFF ____

<b>Teste de Schiller/Teste com Lugol:</b> (1) positivo (2) negativo (3) não realizado	LUGOL __
<b>Teste pH vaginal:</b> (1) 3,0 a 4,0 (2) 4,0 a 5,0 (3) >5,0 (4) não realizado	PH__
<b>RESULTADOS DOS TESTES</b>	
Exame citopatológico convencional (SUS-SISCAN): _____	CITOSUS__
Exame citopatológico meio líquido: _____	CITOLIQ__
PCR para HPV: (1) positivo (2) negativo	HPV__
Tipagem de HPV: (1) 16 (2) 18 (3) 6/11 (4) outro	HPVTP__
PCR Tempo real: (1) positivo (2) negativo	RTHPV __
Tipagem de HPV tempo REAL: _____	RTIPO __
Exame da microbiota vaginal (Gram): Flora 1 (0) Não (1) Sim Flora 2 (0) Não (1) Sim Vaginose Bacteriana 7e 8 (0) Não (1) Sim Vaginose Bacteriana 9 e 10 (0) Não (1) Sim Candidíase (0) Não (1) Sim Vaginose citolítica (0) Não (1) Sim Vaginite aeróbia (0) Não (1) Sim Flora 1+PMN (0) Não (1) Sim Outro _____	FLORA1 __ FLORA2 __ VB78 __ VB910__ CAND__ VC__ VA__ F1PMN __ OUTROG__
PCR para <i>Chlamydia trachomatis</i> (1) positivo (2) negativo	CHLA ____
<b>TRATAMENTO</b>	
Tratamento	
<b>RETORNO</b>	
DATA DO RETORNO: <b>Queixas:</b> <b>Leucorréia (“corrimento”):</b> (0) Não (1) Sim Tempo: (1) até 7 dias (2) 08-30 dias (3) + 30 dias (4) Não sabe Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe <b>Odor:</b> (0) Não (1) Sim <b>Dor:</b> (0) Não (1) Sim <b>Amenorréia:</b> (1) Sim (2) Não	DATAR ____/____/____ QLEUCOR2__ QTEMPO2 __ QINTEN2 __ QASPEC2__ QCOR2__ QODOR2__ DOR2 ____

<p><b>Dispareunia:</b> (1) Sim (2) Não</p> <p><b>Prurido</b> (1) Sim (2) Não</p> <p><b>Outra queixa:</b> (1) Sim (2) Não <b>Qual?</b> _____</p> <p><b>Exame clínico:</b></p> <p>Leucorréia: (0) Não (1) Sim</p> <p>Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe</p> <p>Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe</p> <p>Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe</p> <p><b>Odor</b> (0) Não (1) Sim</p> <p><b>Vulvite</b> (0) Não (1) Sim</p> <p><b>Endocervicite</b> (0) Não (1) Sim</p> <p><b>Ectopia</b> (0) Não (1) Sim</p> <p><b>Lesão</b> (0) Não (1) Sim</p> <p><b>Outros</b> _____</p> <p><b>Exames clínicos:</b></p> <p><b>Whiff test:</b> (1) positivo (2) negativo (3) não realizado</p> <p><b>Teste de Schiller/Teste com Lugol:</b> (1) positivo (2) negativo (3) não realizado</p> <p><b>Teste pH vaginal:</b> (1) 3,0 a 4,0 (2) 4,0 a 5,0 (3) &gt;5,0 (4) não realizado</p>	<p>AMEN2____</p> <p>DISPAR2 ____</p> <p>PRURIDO2__</p> <p>OUTRA2 ____</p> <p>QOUTRA2__</p> <p>ELEUCOR2__</p> <p>EINTEN2 __</p> <p>EASPEC2__</p> <p>ECOR2__</p> <p>EODOR2__</p> <p>EVULV2__</p> <p>ENDOC2__</p> <p>ECTO2__</p> <p>ELESO2__</p> <p>EOUTRO2__</p> <p>WHIFF2 ____</p> <p>LUGOL2 ____</p> <p>PH2____</p>
<p>Exame da microbiota vaginal (Gram):</p> <p>Flora 1 (0) Não (1) Sim</p> <p>Flora 2 (0) Não (1) Sim</p> <p>Vaginose Bacteriana 7e 8 (0) Não (1) Sim</p> <p>Vaginose Bacteriana 9 e 10 (0) Não (1) Sim</p> <p>Candidíase (0) Não (1) Sim</p> <p>Vaginose citolítica (0) Não (1) Sim</p> <p>Vaginite aeróbia (0) Não (1) Sim</p> <p>Flora 1+PMN (0) Não (1) Sim</p> <p>Outro _____</p>	<p>FLORA12 __</p> <p>FLORA22 __</p> <p>VB782__</p> <p>VB9102__</p> <p>CAND2__</p> <p>VC2__</p> <p>VA2__</p> <p>F1PMN2 __</p> <p>OUTROG2__</p>

## ANEXO C



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFFS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e diagnóstico molecular de Papiloma Vírus Humano (HPV) e infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) em mulheres em atendidas na Rede Básica de Saúde.

**Pesquisador:** GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 17632919.0.0000.5564

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.736.932

#### Apresentação do Projeto:

O projeto trata de reapresentação de protocolo de pesquisa em que haviam permanecido pendências éticas de acordo com o parecer nº 3.501.252.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Determinar a prevalência de alterações em exames citológicos de colo de útero, bem como sua relação com a infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) e outras ISTs em mulheres em idade reprodutiva e implementar um método diagnóstico molecular para HPV acessível às mulheres atendidas na Rede Básica de Saúde.

Objetivo Secundário:

Determinar a frequência de alterações patológicas em exames citológicos em mulheres em idade reprodutiva no município de Passo Fundo, RS.

Determinar os fatores sociais, demográficos e de saúde associados às pacientes com alterações citológicas. Demonstrar a importância do meio

líquido na preservação de amostras celulares para testes adicionais com sensibilidade adequada para detecção de HPV e outras ISTs, como os

testes de PCR convencional e PCR em Tempo, uma vez que o Sistema Único de Saúde não

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

**Bairro:** Área Rural

**CEP:** 89.815-899

**UF:** SC

**Município:** CHAPECO

**Telefone:** (49)2049-3745

**E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

disponibiliza estas técnicas para a população atendida dentro do sistema. Padronizar ensaios de PCR convencional e em Tempo Real com sensibilidade adequada para detecção de HPV em amostras provenientes de exame citológico em meio líquido e demonstrar que a detecção do material genético viral pode ser uma técnica acessível para triagem da população. Detectar o material genético viral dos sorotipos mais importantes do vírus: HPVs 16 e 18 (alto risco para câncer de colo de útero) e HPVs 6 e 11 (baixo risco) por PCR convencional e Tempo Real. Avaliar a correlação entre exames citopatológicos alterados e presença de HPV detectado por PCR convencional e Tempo Real. Detectar por método molecular (PCR) os microrganismos comumente associados à flora vaginal, assim como os potenciais patógenos associados a vaginose bacteriana isolados no exame citológico. Estimar a frequência dos diferentes sorotipos de HPV na população estudada. Identificar os fatores sociodemográficos e clínicos associados ao diagnóstico positivo de HPV e de exame citológico alterado.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos deste projeto estão relacionados à coleta para o exame citológico, envolvendo possível desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento.

Para minimizar estes riscos o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar a paciente será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista a paciente será encaminhada à assistência médica. Referente à aplicação do questionário, para evitar constrangimentos, estes serão executados por profissionais da área da saúde, sendo comunicado à paciente que esta poderá se abster de responder as perguntas. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Ademais, os riscos deste projeto envolvem a divulgação de dados de identificação das pacientes. Para

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

**Bairro:** Área Rural

**CEP:** 89.815-899

**UF:** SC

**Município:** CHAPECÓ

**Telefone:** (49)2049-3745

**E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br





Continuação do Parecer: 3.736.932

minimizar os riscos de quebra de sigilo os nomes e números de documentos de identidade das pacientes não serão divulgados em nenhum documento. Nomes e variáveis referentes a cada paciente serão substituídos por números no momento da divulgação dos resultados da pesquisa, de forma a não divulgar qualquer informação referente à amostra, que possa identificar os participantes. O arquivo contendo a planilha geral com os dados será manipulado em um único computador de uso pessoal e de responsabilidade da equipe de pesquisa. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido.

**Benefícios:**

Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV e o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de câncer de colo do útero. A paciente incluída no estudo será informada especificamente em relação ao exato vírus que a infecta, o que permitirá ao médico um melhor tratamento, aliviando de maneira mais eficiente os sintomas deste paciente. Ademais, a pesquisa trará como benefício indireto aos participantes, avaliar a frequência de exames citopatológicos alterados, bem como sua relação com as infecções pelo Papiloma Vírus Humano, com as neoplasias de colo uterino e sua distribuição no município de Passo Fundo, RS. Dessa forma, será possível planejar e executar medidas de promoção e prevenção de saúde que mudem a incidência e o prognóstico da doença, de modo que todas as pacientes possuam uma melhor qualidade de vida.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Os pesquisadores realizaram as adequações éticas, conforme apresentado em carta de pendências anexada na Plataforma Brasil, bem como realizaram as alterações nos espaços da PB.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Folha de rosto nova está adequada  
TCUDA está adequado  
TCLE novo está adequado  
Termo de Ciência da Instituição está adequado.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

Não há impedimentos éticos.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento “Deveres do Pesquisador”.

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicização dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou [cep.uffs@uffs.edu.br](mailto:cep.uffs@uffs.edu.br);

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a “central de suporte” da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

**Bairro:** Área Rural

**CEP:** 89.815-899

**UF:** SC

**Município:** CHAPECO

**Telefone:** (49)2049-3745

**E-mail:** [cep.uffs@uffs.edu.br](mailto:cep.uffs@uffs.edu.br)



Continuação do Parecer: 3.736.932

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1395936.pdf	27/11/2019 20:45:36		Aceito
Outros	termo_ciencia_hsvp.pdf	27/11/2019 20:45:13	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	TCUD.pdf	19/11/2019 16:16:29	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	14/11/2019 15:20:25	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	14/11/2019 15:19:54	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_completo_novo.pdf	14/11/2019 15:19:36	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_nova.pdf	14/11/2019 15:18:53	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	ficha_rotina.pdf	10/07/2019 19:55:10	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	Instrumento_coleta.pdf	10/07/2019 19:54:45	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CHAPECO, 30 de Novembro de 2019

---

**Assinado por:**  
**Fabiane de Andrade Leite**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

**Bairro:** Área Rural

**CEP:** 89.815-899

**UF:** SC

**Município:** CHAPECO

**Telefone:** (49)2049-3745

**E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br

## 2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

### 2.2.1 Apresentação

O presente relatório tem como objetivo detalhar o desenvolvimento do projeto de pesquisa intitulado “Prevalência de *Candida* spp. na microbiota vaginal de mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS)”, que busca determinar a prevalência de *Candida* spp. em mulheres de 25 a 64 anos atendidas nos ambulatórios de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul e do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). O estudo foi desenvolvido sob orientação do Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti e da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jossimara Poletini.

### 2.2.2 Desenvolvimento

O projeto, desenvolvido no decorrer do segundo semestre letivo do ano de 2021, é o um recorte do projeto de título “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, que foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS cujo parecer é de número 3.501.252.

#### 2.2.2.1 Informações gerais e coleta de dados

O projeto de pesquisa foi escrito durante o segundo semestre letivo do ano de 2021, no componente curricular Trabalho de Curso I.

Referente à coleta de dados, como o presente estudo é um recorte de um projeto maior, a coleta se iniciou em novembro de 2020 por estudantes integrantes da equipe. Em agosto de 2021, a acadêmica ingressou no projeto e começou a participar das coletas. Foi realizada uma reunião com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jossimara Poletini, com o objetivo de explicar o que era o projeto e quais os critérios a serem considerados para realizar a coleta. Foi informado sobre a participação da acadêmica nas coletas do citopatológico das pacientes que aceitaram participar da pesquisa, que consiste em entregar os materiais (fita de ph, swab e citologia à fresco), ao responsável por realizar a coleta no Ambulatório durante a consulta de rotina da paciente. Bem como também foi orientado sobre como abordar as pacientes e convidá-las a participar do projeto e em que

elas se beneficiariam. Por fim, foi repassado sobre como o questionário deveria ser respondido a fim de evitar erros no preenchimento.

Seguido a isso, o orientador e coorientadora seguiram com orientações acerca das atividades laboratoriais. Assim sendo, ela informou sobre o que consistia a técnica de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real (qPCR) e ensinou como realizar a mesma, bem como deveria ser realizado a coloração de gram nas lâminas.

Os dados obtidos pelos questionários respondidos pelas pacientes participantes da pesquisa foram duplamente digitados no EpiData versão 3.1 (distribuição livre) e, posterior a isso, foram exportados para o programa PSPP (distribuição livre), onde foram realizadas as análises estáticas dos dados, bem como a relação entre as variáveis dependentes e independentes.

#### **2.2.2.2 Processamento das amostras e protocolos laboratoriais**

Para coloração das lâminas foi empregado o método de coloração de Gram, técnica que emprega o uso de corantes que possuem afinidade por bactérias Gram-positivas e Gram negativas, corando-as e facilitando a observação do esfregaço como um todo. Embora as estruturas fúngicas não sejam especificamente classificadas com Gram positivas ou negativas, se coram pela violeta genciana, o que favorece sua identificação. Inicialmente as lâminas foram cobertas com solução de violeta por 60 segundos. Feito isso, as lâminas foram enxaguadas com água destilada e cobertas por lugol durante 60 segundos. Após isso, um novo enxague com água destilada foi realizado e foi aplicada uma solução álcool-acetona para descoloração, que agiu por 30 segundos. O último passo da técnica de coloração consistiu-se em enxaguar novamente as lâminas com água destilada e foi aplicada a fucsina, que agiu por 30 segundos e um novo enxague foi realizado. Concluída a técnica de coloração, as lâminas foram analisadas por microscopia óptica, a fim de determinar as alterações presentes na microbiota vaginal. Como referência para essa análise, foi utilizado o Escore de Nugent.

A partir da amostra coletada em meio líquido, foi retirado 1mL do conteúdo amostral e separado em microtubos para posterior extração do DNA e pesquisa da presença de *Candida* spp. Para extração e purificação do DNA total, foi utilizado o Kit NucleoSpin® Blood (Macherey-Nagel, Düren, GE) seguindo as instruções do fabricante. A extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da  $\beta$ -globina. A extração do DNA de controles positivos das espécies de *Candida* (cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. dubliniensis* gentilmente cedidas pelo Dr. Sydney Hartz Alves do

Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Santa Maria) foi realizada a partir do mesmo método.

Seguido a isso, essas amostras foram preparadas para a realização do PCR em tempo real, para verificar quais amostras estudadas são positivas ou negativas para *Candida*.

Inicialmente, foi realizada a padronização da técnica, afim de observar qual a melhor temperatura de anelamento do DNA. Foram realizados 4 testes com controles positivos para *Candida* de diferentes espécies e a temperatura padrão obtida foi de 62,5°C. Os primers utilizados na reação estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1-Primers** utilizados no PCR em tempo real.

Primers	Sequência 5'3'
ITS 1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
ITS 4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

Fonte: Elaborado pelo autor.

Definiu-se então, como protocolo padrão para realização do PCR, um volume final de 20µL. Tal volume foi composto por: 10µL de SyBr, 0,2 µL de cada *primer* ITS, bem como 3,6µL de água e 6µL das amostras a serem testada. Como controle positivo, foi utilizado amostras coletadas a partir da *Candida* em cultura e extraído o DNA.

Montou-se, então, a placa a ser lida no termociclador, que possui 96 poços que foram preenchidos com 146µL do mix preparado com os reagentes e *primers* e 6µL das amostras das pacientes. O processo de PCR em tempo real foi iniciado a partir das etapas de ciclagem da reação, que foram realizadas em termociclador no aparelho QIAgen QIAquant 96-5plex (QIAgen, Hilden, GE). As reações seguiram os seguintes parâmetros: 95°C por 10 minutos e 45 ciclos de 95°C por 10 segundos, 62,5°C por 40 segundos e 72°C por 40 segundos. Por fim, foi gerada a curva de melting, cuja temperatura variou de 60°C a 95°C por 36 ciclos de 15 segundos cada. Ao término das etapas de ciclagem, os resultados obtidos foram transferidos para o computador, para análise no software QIAquant 96 Software 1.0.3 (distribuição livre).

O objetivo inicial apresentado no projeto de pesquisa era analisar a prevalência e diferenciar as espécies em *albincas*, *glabrata*, *krusei* e *dublinskiensis*. No entanto, tal ação não foi possível devido à falta dos reagentes necessários que compõem a reação. Assim sendo, foi realizada somente a análise de prevalência de *Candida* nas amostras.

### 2.2.2.3 Considerações finais

Por fim, com a conclusão da coleta de dados e análise laboratorial das amostras, foi realizada a comparação e discussão dos resultados encontrados com as informações disponíveis

na literatura e foi produzido um artigo científico que apresenta os resultados gerados pelo presente estudo, tal artigo está de acordo com as normas da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (ANEXO D).

## **ANEXO D**

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Rev Bras Ginecol Obstet., ISSN 1806-9339), publicação mensal de divulgação científica da Federação das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO), é dirigida a obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar resultados de pesquisa sobre temas relevantes no campo da Ginecologia, Obstetrícia e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais. A revista recebe submissões apenas no idioma inglês.

### **Instruções aos Autores**

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia publica as seguintes categorias de manuscritos: Artigos Originais, trabalhos completos prospectivos, experimentais ou retrospectivos. Manuscritos contendo resultados de pesquisa clínica ou experimental original têm prioridade para publicação. Relatos de Casos, de grande interesse e bem documentados, do ponto de vista clínico e laboratorial. Os autores deverão indicar na carta de encaminhamento os aspectos novos ou inesperados em relação aos casos já publicados. O texto das seções Introdução e Discussão deve ser baseado em revisão bibliográfica atualizada. Artigos de Revisão, incluindo comprehensive reviews metanálises ou revisões sistemáticas. Contribuições espontâneas são aceitas. Devem ser descritos os métodos e procedimentos adotados para a obtenção do texto, que deve ter como base referências recentes, inclusive do ano em curso. Tratando-se de tema ainda sujeito a controvérsias, a revisão deve discutir as tendências e as linhas de investigação em curso. Apresentar, além do texto da revisão, resumo e conclusões. Ver a seção "Instruções aos Autores" para informações quanto ao corpo do texto e página de título; Cartas ao Editor, versando sobre matéria editorial ou não, mas com apresentação de informações relevantes ao leitor. As cartas podem ser resumidas pela editoria, mas com manutenção dos pontos principais. No caso de críticas a trabalhos publicados, a carta é enviada aos autores para que sua resposta possa ser publicada simultaneamente; Editorial, somente a convite do editor.

### **Título**

Ao escrever um artigo científico, o pesquisador deve se atentar na elaboração do título do manuscrito. O título é o cartão de visitas de qualquer publicação. Deve ser elaborado com

muito cuidado e de preferência escrito apenas após a finalização do artigo. Um bom título é aquele que descreve adequadamente o conteúdo do manuscrito. Geralmente, ele não é uma frase, pois não contém o sujeito, além de verbos e objetos arranjados. Os títulos raramente devem conter abreviações, fórmulas químicas, adjetivos acessivos, nome de cidades entre outros. O título dos manuscritos submetidos à RBGO deve conter no máximo 18 palavras.

### **Resumo**

O resumo deve fornecer o contexto ou a base para o estudo e deve estabelecer os objetivos do estudo, os procedimentos básicos, os principais resultados e as principais conclusões. Deve enfatizar aspectos novos e importantes do estudo ou das observações. Pelo fato de os resumos serem a única parte substantiva do artigo indexada em muitas bases de dados eletrônicas, os autores devem cuidar para que os resumos reflitam o conteúdo do artigo de modo preciso e destacar. No Resumo não utilize abreviações, símbolos e referências. No caso de artigos originais oriundos de ensaios clínicos, os autores devem informar o número de registro ao término da redação.

Resumo informativo, do tipo estruturado, de artigo original. Os resumos dos artigos originais submetidos à RBGO devem ser, obrigatoriamente, estruturados em quatro seções e conter no máximo 250 palavras: Objetivo: O que foi feito; a questão formulada pelo investigador. Métodos: Como foi feito; o método, incluindo o material usado para alcançar o objetivo. Resultados: O que foi encontrado, o achado principal e, se necessário, os achados secundários. Conclusão: O que foi concluído; a resposta para a questão formulada. Resumo informativo, do tipo estruturado, de artigo de revisão sistemática. Dentre os itens a serem incluídos, estão o objetivo da revisão à pergunta formulada, a fonte de dados, os procedimentos de seleção dos estudos e de coleta de dados, os resultados e as conclusões. Os resumos dos artigos de revisão sistemática submetidos à RBGO devem ser, obrigatoriamente, estruturados em seis seções e conter no máximo 250 palavras: Objetivo: Declarar o objetivo principal do artigo. Fontes dos dados: Descrever as fontes de dados examinadas, com datas, termos de indexação e limitações inclusive. Seleção dos estudos: Especificar o número de estudos revisados e os critérios empregados em sua seleção. Coleta de dados: Resumir a conduta utilizada para extrair os dados e como ela foi usada. Síntese dos dados: Expor os resultados principais da revisão e os métodos empregados para obtê-los. Conclusões: Indicar as conclusões principais e sua utilidade clínica. Resumo informativo, do tipo não estruturado, de artigos de revisão, exceto revisão sistemática e estudos de caso deve conter a essência do artigo, abrangendo a finalidade, o método, os resultados e as conclusões ou recomendações. Expõe



detalhes suficientes para que o leitor possa decidir sobre a conveniência da leitura de todo o texto (Limite de palavras: 150).

### **Palavras-chave**

As palavras-chave de um trabalho científico indicam o conteúdo temático do texto que representam. Dentre os objetivos dos termos mencionados considera-se como principais a identificação do conteúdo temático, a indexação do trabalho nas bases de dados e a rápida localização e recuperação do conteúdo. Os sistemas de palavras-chave utilizados pela RBGO são o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde – Indexador Lilacs) e o MeSH (Medical Subject Headings – Indexador MEDLINE-PubMed). Por gentileza, escolha cinco descritores que representem o seu trabalho nestas plataformas. Corpo do manuscrito (Os manuscritos submetidos à RBGO devem possuir no máximo 4000 palavras, sendo que as tabelas, quadros e figuras da seção Resultados não são contabilizados, bem como as Referências)

### **Introdução**

A seção Introdução de um artigo científico tem por finalidade informar o que foi pesquisado e o porquê da investigação. É a parte do artigo que prepara o leitor para entender a investigação e a justificativa de sua realização. O conteúdo a ser informado nesta seção deve fornecer contexto ou base para o estudo (isto é, a natureza do problema e a sua importância); declarar o propósito específico, o objetivo de pesquisa ou a hipótese testada no estudo ou observação. O objetivo de pesquisa normalmente tem um foco mais preciso quando é formulado como uma pergunta. Tanto os objetivos principais quanto os secundários devem estar claros e quaisquer análises em um subgrupo pré-especificados devem ser descritas; dar somente referências estritamente pertinentes e não incluir dados ou conclusões do trabalho que está sendo relatado.

### **Métodos**

Métodos, segundo o dicionário Houaiss, “é um processo organizado, lógico e sistemático de pesquisa”. Método compreende o material e os procedimentos adotados na pesquisa de modo a poder responder à questão central de investigação. Estruture a seção Métodos da RBGO iniciando pelo tipo de delineamento do estudo; o cenário da pesquisa (local e a época em que se desenrolou); a amostra de participantes; a coleta de dados; a intervenção a ser avaliada (se houver) e também a intervenção alternativa; os métodos estatísticos empregados e os aspectos éticos de investigação. Ao pensar na redação do delineamento do estudo reflita se o delineamento é apropriado para alcançar o objetivo da investigação, se a análise dos dados

reflete o delineamento e se foi alcançado o que se esperava com o uso daquele delineamento para pesquisar o tema.

## **Resultados**

O propósito da seção Resultados é mostrar o que foi encontrado na pesquisa. São os dados originais obtidos e sintetizados pelo autor, com o intuito de fornecer resposta à questão que motivou a investigação. Para a redação da seção, apresente os resultados em sequência lógica no texto, nas tabelas e nas ilustrações, mencionando primeiro os achados mais importantes. Não repita no texto todas as informações das tabelas ou ilustrações; enfatize ou resuma apenas observações importantes. Materiais adicionais ou suplementares e detalhes técnicos podem ser colocados em um apêndice, no qual estarão acessíveis, mas não interromperão o fluxo do texto. Como alternativa, essas informações podem ser publicadas apenas na versão eletrônica da Revista. Quando os dados são resumidos na seção resultado, dar os resultados numéricos não apenas em valores derivados (por exemplo, percentuais), mas também em valores absolutos, a partir dos quais os derivados foram calculados, e especificar os métodos estatísticos usados para analisá-los. Use apenas as tabelas e figuras necessárias para explicar o argumento do trabalho e para avaliar o seu embasamento. Quando for cientificamente apropriado, as análises dos dados com variáveis tais como idade e sexo devem ser incluídas. Não ultrapasse o limite de no máximo cinco tabelas, cinco quadros ou cinco figuras. As tabelas, quadros e/ou figuras devem ser inclusas no corpo do manuscrito e não contabilizam o limite solicitado de 4000 palavras.

**ATENÇÃO!** As seções Métodos e Resultados nos Estudos de Caso devem ser substituídas pelo termo Descrição do Caso.

## **Discussão**

Na seção Discussão enfatize os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões deles derivadas. Não repita detalhadamente dados ou outras informações apresentados nas seções de introdução ou de resultados. Para estudos experimentais, é útil iniciar a discussão resumindo brevemente os principais achados, comparar e contrastar os resultados com outros estudos relevantes, declarar as limitações do estudo e explorar as implicações dos achados para pesquisas futuras e para a prática clínica. Evite alegar precedência e aludir a trabalhos que não estejam completos. Não discuta dados que não são diretamente relacionados aos resultados da pesquisa apresentada. Proponha novas hipóteses quando justificável, mas qualificá-las

claramente como tal. No último parágrafo da seção Discussão informe qual a informação do seu trabalho que contribui relativamente para o avanço-novo conhecimento.

## **Conclusão**

A seção Conclusão tem por função relacionar as conclusões com os objetivos do estudo, mas o autor deve evitar afirmações sem embasamento e conclusões que não tenham sustentação adequada pelos dados. Em especial, os autores devem evitar fazer afirmações sobre benefícios econômicos e custos, a menos que seu original inclua análises econômicas e dados apropriados. Referências Uma pesquisa é fundamentada nos resultados de outras que a antecederam. Uma vez publicada, passa a ser apoio para trabalhos futuros sobre o tema. No relato que faz de sua pesquisa, o autor assinala os trabalhos consultados que julga pertinente informar aos leitores, daí a importância de escolher boas Referências. As referências adequadamente escolhidas dão credibilidade ao relato. Elas são fonte de convencimento do leitor da validade dos fatos e argumentos apresentados.

Atenção! Para os manuscritos submetidos à RBGO, os autores devem numerar as referências por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no texto. Evite o número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos, teses ou publicações de circulação restrita (não indexados). Busque citar as referências primárias e convencionais (artigos em periódicos científicos e os livros-textos). Não empregue referências do tipo "observações não publicadas" e "comunicação pessoal". Publicações dos autores (autocitação) devem ser empregadas apenas se houver necessidade clara e forem relacionadas ao tema. Nesse caso, incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais publicados em periódicos regulares (não citar capítulos ou revisões). O número de referências deve ser de 35, exceto para artigos de revisão. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências.

**Para formatar as suas referências, consulte o Vancouver.**

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

#### **Prevalência de *Candida* spp. identificada por qPCR na microbiota vaginal de mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde**

Camila Santos Rocha<sup>1</sup>, Jossimara Poletini<sup>2</sup> Amauri Braga Simonetti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo – RS.

<sup>2</sup> Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo – RS.

Autor correspondente:

Camila Santos Rocha

srochacamila02@gmail.com

#### **RESUMO**

**Objetivos:** Determinar a prevalência da infecção por *Candida* spp. a partir da técnica de PCR em tempo real (qPCR) e descrever os sinais e sintomas mais frequentemente encontrados.

**Metodologia:** Estudo transversal, realizado no período de agosto de 2021 a setembro de 2022, com mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS) que realizaram o exame especular e coleta do citopatológico em meio líquido, cujo conteúdo foi processado por meio da técnica de qPCR. Adicionalmente, amostra do esfregaço vaginal foi submetida à coloração de Gram e posterior pesquisa de estruturas fúngicas pela microscopia óptica. As informações sociodemográficas e histórico clínico foram obtidas a partir de um questionário padronizado. A análise da relação entre as variáveis foi feita pelo do Teste de Qui-quadrado e o Teste Exato de Fisher, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Foram incluídas no estudo 144 participantes, com faixa etária prevalente entre 18 e 45 anos (51,4%), com escolaridade menor ou igual a 9 anos de estudo, que possuem algum emprego e que residem em municípios do Rio Grande do Sul diferentes da cidade de Passo Fundo. Referente aos hábitos comportamentais e antecedentes clínicos, prevaleceu mulheres que não fumam ou são ex-tabagistas e que fazem uso de algum método contraceptivo. A positividade para *Candida* spp. na qPCR foi de 26,4%. **Conclusão:** A prevalência da infecção por *Candida* spp. é alta e possui como principais sintomas o prurido, a leucorreia e a dispareunia. Os principais fatores associados à presença do fungo estão relacionados ao uso de métodos contraceptivos e a presença de *diabetes mellitus*.

**Palavras-chave:** Candidíase vulvovaginal. Infecção fúngica. PCR em tempo real. Infecções vaginais por leveduras. Ginecologia.

## **ABSTRACT**

**Objectives:** To determine the prevalence of *Candida* spp. from the real-time PCR (qPCR) technique and describe the most frequently encountered signs and symptoms. **Methodology:** Cross-sectional study, carried out from August 2021 to September 2022, with women assisted in the Unified Health System (SUS) who underwent the speculum examination and collection of cytopathological in liquid medium, whose content was processed through the technique of qPCR. Additionally, a sample of the vaginal smear was submitted to Gram staining and subsequent investigation of fungal structures by optical microscopy. Sociodemographic information and clinical history were obtained from a standardized questionnaire. The analysis of the relationship between the variables was performed using the Chi-square test and Fisher's exact test, with a significance level of 5%. **Results:** 144 participants were included in the study, with a prevalent age group between 18 and 45 years (51.4%), with education less than or equal to 9 years of study, who have a job and who reside in municipalities in Rio Grande do Sul different from the city of Passo Fundo. Regarding behavioral habits and clinical history, women who do not smoke or who are ex-smokers and who use some contraceptive method prevailed. The positivity for *Candida* spp. in qPCR was 26.4%. **Conclusion:** The prevalence of *Candida* spp. is high and its main symptoms are pruritus, leucorrhoea and dyspareunia. The main factors related to the presence of the fungus are related to the use of contraceptive methods and the presence of diabetes mellitus.

**Keywords:** Vulvovaginal candidiasis. Fungal infection. real-time PCR. Vaginal yeast infections. Gynecology.

## **INTRODUÇÃO**

A *Candida* é um fungo que pode ser encontrado na pele, no trato gastrointestinal e nas mucosas, e, em baixas concentrações, pode colonizar a vagina sem provocar sintomas, como parte da microbiota vaginal. No entanto, na vigência de alterações da mucosa vaginal e simbiose de microrganismos, esse fungo pode expressar sua virulência e provocar candidíase vulvovaginal (CVV)<sup>(1)</sup>.

A CVV é uma das principais infecções relatadas em consultórios ginecológicos, estima-se que 45% das mulheres adultas tiveram pelo menos um episódio de infecção por *Candida*,

sendo a segunda infecção genital mais frequente no Brasil, atrás apenas da vaginose bacteriana<sup>(2)</sup>. Nesse contexto, foi realizado um estudo que analisou amostras de conteúdo vaginal de 270 mulheres que apresentavam sintomas de candidíase vulvovaginal e 100 mulheres saudáveis e obteve como resultado a prevalência de aproximadamente 35% de leveduras do gênero *Candida*, sendo a mais prevalente dentre essas a espécie *Candida albicans* (67%) e 33% de espécies não-*albicans*<sup>(3)</sup>.

Dentre as manifestações clínicas da infecção por *Candida*, os sintomas mais relatados são pruridos na vulva, leucorreia e ardor vaginal, presentes de forma concomitante em mais da metade das pacientes<sup>(4)</sup>. Diante disso, pode-se classificar a CVV em não complicada, quando as manifestações sintomatológicas ocorrem de forma esporádica e numa frequência menor que três casos por ano, e complicada ou recorrente quando ocorre mais que quatro vezes por ano<sup>(5)</sup>. Embora não esteja associada a índices de mortalidade, a infecção por *Candida* spp. pode acarretar em um sofrimento substancial devido à intensidade dos sintomas, que pode atrapalhar tanto a vida profissional quando pessoal, alterando a autoestima da paciente. Embora mais raro, a infecção por *Candida* não tratada acarreta o risco de levar a uma infecção sistêmica na qual outros órgãos podem se envolver e levar à sepse. Além disso, sua capacidade de formar biofilmes, ou seja, agregar-se com outros microrganismos facilita sua persistência e dificulta sua eliminação<sup>(6)</sup>.

O diagnóstico da candidíase é estabelecido pelo estado clínico da paciente associado a resultados laboratoriais. Alguns testes laboratoriais podem ser realizados afim da confirmação do diagnóstico. O teste de exame direto utiliza KOH (hidróxido de potássio) para observar se há leveduras em brotamento. Pode-se também realizar a microscopia direta ou com coloração para observação das hifas e esporos; também pode-se utilizar cultura em ágar para isolar o patógeno e observar sua morfologia que, quando positivo, as colônias da *Candida* se apresentam em coloração branca e homogênea. Outro método também possível de ser realizado é a detecção da *Candida* spp. através da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR).

A qPCR é considerada atualmente um dos métodos mais sensíveis para a detecção de DNA de patógenos em amostras clínicas, devido à amplificação do DNA de interesse, ampliando a possibilidade de detectar a *Candida*, bem como diferenciar o genótipo das espécies do fungo envolvidas na candidíase vulvovaginal, o que justifica ser o método de escolha para análise do presente estudo<sup>(7)</sup>.

Diante do contexto exposto, fica claro que a infecção por *Candida* spp. é um problema de saúde pública prevalente que implica em diversas consequências na saúde da mulher e, por

isso, a pesquisa desse fungo é de grande relevância tanto pela alta prevalência de infecção nos hospedeiros humanos, bem como pela sintomatologia clínica expressa durante o processo infeccioso.

Adicionado a isso, os estudos sobre a prevalência da *Candida* spp. no Brasil são, além de escassos, pesquisas antigas, que já não condizem com o atual cenário epidemiológico desses fungos. Ademais, o uso crescente e indevido de antifúngicos, muitas vezes sem o diagnóstico clínico, bem como tratamento incompleto ou inadequado têm contribuído para o aumento dos casos e maior resistência fúngica. Dessa forma, os resultados dessa pesquisa podem auxiliar a definir o perfil clínico das infecções por *Candida* no município de Passo Fundo-RS. Assim sendo, a realização desse estudo é justificada pelo objetivo de investigar a prevalência da *Candida* e a clínica associada à infecção, a fim de beneficiar as mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS), tanto no seu diagnóstico quanto no tratamento da doença.

## **MÉTODOS**

Trata-se de um estudo transversal, realizado no período de agosto de 2021 a setembro de 2022 no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), na cidade de Passo Fundo, RS.

Relativo ao tamanho da amostra a ser analisada, foi calculada a estimativa de 154 pacientes no respectivo estudo. Essa estimativa foi realizada considerando-se o número de atendimentos do referido ambulatório (n=1000/ano) e a prevalência de infecção por *Candida* spp., que é de 20%, considerando o nível de confiança de 95%<sup>(3)</sup>.

A população do estudo foi delimitada pelos critérios de inclusão de mulheres com idade entre 18 e 64 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização do exame citológico cervico-vaginal e que estivessem há pelo menos 72 horas de abstinência sexual.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS sob parecer número 3.736.932, atendendo à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. As pacientes que foram convidadas a participar do estudo, foi apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE, que foi assinado e entregue a equipe de pesquisa e, posterior a isso, foi aplicado às participantes um questionário padronizado, pré-testado e pré-codificado, desenvolvido especificamente para este estudo, contendo questões sociodemográficas e de saúde.

As pacientes foram examinadas de acordo com protocolo ginecológico padrão e submetidas ao exame citológico. Na realização do exame especular, empregou-se o espécuro

bi-valvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante para afastamento das paredes vaginais. As amostras cérvico-vaginais foram obtidas pela técnica de citologia em meio líquido CellPreserv® (Kolplast) e processadas no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, seguindo protocolo padrão do sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv e posterior coloração pelo método de coloração de Gram. As amostras foram classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2001. Adicionalmente, foram coletadas amostras do conteúdo do terço médio vaginal com uso de *swab* estéril, cujo conteúdo foi disposto em 02 lâminas de vidro para microscopia, as quais foram encaminhadas ao laboratório de Microbiologia da UFFS para posterior processamento.

Para coloração das lâminas foi empregado o método de coloração de Gram, técnica que emprega o uso de corantes que possuem afinidade por bactérias Gram-positivas e Gram negativas, corando-as e facilitando a observação do esfregaço como um todo. Embora as estruturas fúngicas não sejam especificamente classificadas com Gram-positivas ou negativas, se coram pela violeta genciana, o que favorece sua identificação. Inicialmente as lâminas foram cobertas com solução de violeta por 60 segundos. Feito isso, as lâminas foram enxaguadas com água destilada e cobertas por lugol durante 60 segundos. Após isso, um novo enxague com água destilada foi realizado e foi aplicada uma solução álcool-acetona para descoloração, que agiu por 30 segundos. O último passo da técnica de coloração consistiu-se em enxaguar novamente as lâminas com água destilada e foi aplicada a fucsina, que agiu por 30 segundos e um novo enxague foi realizado. Concluída a técnica de coloração, as lâminas foram analisadas por microscopia óptica, a fim de determinar a presença de estruturas fúngicas.

A partir da amostra coletada em meio líquido, foi retirado 1mL do conteúdo amostral e separado em microtubos para posterior extração do DNA e pesquisa da presença de *Candida* spp. Para extração e purificação do DNA total, foi utilizado o Kit NucleoSpin® Blood (Macherey-Nagel, Düren, GE) seguindo as instruções do fabricante. A extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da  $\beta$ -globina. A extração do DNA de controles positivos das espécies de *Candida* (*albicans*, *glabrata*, *krusei* e *dublinsiensis*, cepas gentilmente cedidas pelo Dr. Sydney Hartz Alves do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Santa Maria) foi realizada a partir do mesmo método.

Seguido a isso, essas amostras foram preparadas para a realização do PCR em tempo real (qPCR), para verificar quais amostras estudadas são positivas ou negativas para *Candida*. Inicialmente, foi realizada a padronização da técnica, a fim de observar qual a melhor



temperatura de anelamento do DNA, utilizando-se os controles positivos para *Candida* de diferentes espécies e a temperatura padrão obtida foi de 62,5°C. Os primers utilizados na reação foram o ITS1 (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) e o ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC). Dessa forma, o protocolo padrão utilizado para realização do PCR consistiu de um volume final de 20µL, composto por 10µL de SyBr, 0,2 µL de cada *primer* ITS, bem como 3,6µL de água e 6µL das amostras a serem testadas e dos controles positivos,

Montou-se, então, a placa a ser lida no termociclador, que possui 96 poços que foram preenchidos com 14µL do mix preparado com os reagentes e *primers* e 6µL das amostras das pacientes. O processo de PCR em tempo real foi iniciado a partir das etapas de ciclagem da reação, que foram realizadas em termociclador no aparelho QIAgen QIAquant 96-5plex (Qiagen, Hilden, GE). As reações seguiram os seguintes parâmetros: 95°C por 10 minutos e 45 ciclos de 95°C por 10 segundos, 62,5°C por 40 segundos e 72°C por 40 segundos. Por fim, foi gerada a curva de melting, cuja temperatura variou de 60°C a 95°C por 36 ciclos de 15 segundos cada. Ao término das etapas de ciclagem, os resultados obtidos foram transferidos para o computador, para análise no software QIAquant 96 Software 1.0.3 (distribuição livre).

Foi considerada como variável dependente a positividade para *Candida* spp. na reação de qPCR, e como variáveis independentes foram selecionadas: idade, tabagismo, uso de preservativo, método contraceptivo, história prévia de vaginose bacteriana ou candidíase. Em uma segunda análise, considerou-se a positividade de *Candida* no qPCR como variável independente e as queixas clínicas e presença de esporos e/ou hifas visualizadas sob microscopia óptica como variáveis dependentes.

O processamento dos dados obtidos nos questionários foi duplamente digitado em um banco de dados, desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). Referente a análise, essa foi estatística descritiva consistindo no método de distribuição de frequências. Para realizar a relação entre as variáveis dependentes com as independentes, foi utilizado o Teste do Qui-quadrado. Entretanto, quando o número amostral foi pequeno, foi empregado o uso do Teste Exato de Fisher. Para isso, os dados foram exportados para o software PSPP (distribuição livre), no qual foram realizadas as análises estatísticas, que incluem a frequência absoluta e a relativa das variáveis. Para o Teste de Qui-quadrado e o Teste Exato de Fisher, foi considerado o nível de significância estatística de 5%.

## **RESULTADOS**

Durante o período em que o estudo foi realizado, 144 pacientes aceitaram participar e

foram incluídas na pesquisa. A caracterização sociodemográfica das participantes está representada na Tabela 1. Nota-se maior percentual de mulheres na faixa etária entre 18 e 45 anos (51,4%), com escolaridade menor ou igual a 9 anos (51,1%), que possuem algum emprego (57,6%) e que residem em outras cidades do Rio Grande do Sul (56,9%) que não sejam o município de Passo Fundo.

**Tabela 1.** Caracterização sociodemográfica de mulheres atendidas no ambulatório de especialidades da UFFS em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo. Passo Fundo, RS, agosto de 2021 a setembro de 2022. (n=144)

Variáveis	n	%
<b>Faixa etária</b>		
Entre 18 e 45 anos	74	51,4
Mais que 46 anos	70	48,6
<b>Escolaridade em anos (n=133)</b>		
Menor ou igual a 9 anos	68	51,1
Mais que 10 anos	65	48,9
<b>Trabalha</b>		
Sim	83	57,6
Não/Aposentada/Pensionista	61	42,4
<b>Município de residência</b>		
Passo Fundo	62	43,1
Outras cidades	82	56,9

Os hábitos de vida, comportamento sexual e antecedentes clínicos das pacientes participantes estão descritos na Tabela 2. Referente aos hábitos de vida, notou-se maior prevalência de mulheres que não fumam ou são ex-tabagistas (84,0%) e que não se consideram etilistas (70,8%). No que diz respeito ao comportamento sexual, quando questionadas acerca da quantidade de parceiros sexuais nos últimos 12 meses, 93,9% relataram ter apenas um parceiro. Quanto ao uso de preservativos nas relações sexuais, 72,1% das mulheres não o fazem. Referente ao método contraceptivo, 62,3% das participantes disseram fazer uso de algum método e, dentre estes, o mais frequentemente relatado foi o anticoncepcional oral (57,8%). Analisando os antecedentes clínicos das participantes, 11,8% relataram ter histórico de vaginose bacteriana, 33,3% histórico de candidíase, 11,1% já positivaram para o HPV e 2,8% já obtiveram o diagnóstico de sífilis. A respeito das doenças crônicas, 13,2% das participantes apresentam o diagnóstico de Diabetes Mellitus.

**Tabela 2.** Hábitos de vida, comportamento sexual e antecedentes clínicos de mulheres atendidas no ambulatório de especialidades da UFFS em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo. Passo Fundo, RS, agosto de 2021 a setembro de 2022. (n=144)

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Tabagismo</b>		
Sim	23	16,0
Não/ex-fumante	121	84,0
<b>Etilismo</b>		
Sim	42	29,2
Não	102	70,8
<b>Número de parceiros sexuais no último ano (n=131)</b>		
Até um parceiro	123	93,9
Dois ou mais parceiros	8	6,1
<b>Uso de preservativo (n=129)</b>		
Sim, sempre/ algumas vezes	36	27,9
Não	93	72,1
<b>Método contraceptivo (n=130)</b>		
Sim	81	62,3
Não	49	37,7
<b>Qual o método contraceptivo (n=83)</b>		
Anticoncepcional oral	48	57,8
Dispositivo intrauterino	2	2,4
Anticoncepcional injetável	15	18,1
Laqueadura	13	15,7
Preservativo	4	4,8
Não se aplica	1	1,2
<b>Vaginose bacteriana prévia*</b>		
Sim	17	11,8
Não/não sabe/não lembra	127	88,2
<b>Histórico de candidíase*</b>		
Sim	48	33,3
Não/não sabe/não lembra	96	66,7
<b>Diagnóstico prévio de HPV*</b>		
Sim	16	11,1
Não/não sabe/não lembra	128	88,9
<b>Diagnóstico prévio de Sífilis*</b>		
Sim	4	2,8
Não/não sabe/não lembra	140	97,2
<b>Diabetes Mellitus*</b>		
Sim	19	13,2
Não/não sabe/não lembra	125	86,8

\*Diagnóstico médico autorreferido

Os sintomas ginecológicos referidos pelas pacientes participantes bem como os testes clínicos realizados durante o exame estão descritos na Tabela 3. A queixa de leucorreia foi referida por 22,4% das mulheres, enquanto a dispareunia foi um sintoma presente em 34,5% das participantes. Com relação ao prurido, 17,6% das mulheres disseram possuir esse sintoma.

A observação microscópica de elementos fúngicos, esporos e pseudohifas, determinando o diagnóstico de candidíase foi encontrada em 5,6% das amostras. Por outro

lado, a presença de DNA de *Candida* spp. determinada pela técnica de qPCR, obteve a prevalência de 26,4% (Tabela 3 e Figuras 1 e 2). A técnica de PCR em tempo real foi realizada em 140 das participantes incluídas no presente estudo, devido à não adequabilidade de 04 amostras.

**Tabela 3.** Sintomas ginecológicos referidos e testes clínicos realizados de mulheres atendidas no ambulatório de especialidades da UFFS em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo. Passo Fundo, RS, agosto de 2021 a setembro de 2022. (n=144)

Variáveis	n	%
<b>Candida na qPCR (n=140)</b>		
Positivo	37	26,4
Negativo	103	73,6
<b>Leucorreia (n=143)</b>		
Sim	32	77,6
Não	111	22,4
<b>Dispareunia (n=142)</b>		
Sim	49	34,5
Não	93	65,5
<b>Prurido (n=142)</b>		
Sim	25	17,6
Não	117	82,4
<b>Candida na microscopia</b>		
Sim	8	5,6
Não	136	94,4

Dentre as características sociodemográficas e os hábitos de vida, observou-se que não houve uma relação estatisticamente significativa entre o resultado positivo de *Candida* spp. na reação de qPCR e a faixa etária, tabagismo, uso de preservativo, vaginose bacteriana, histórico de candidíase e diabetes mellitus. Ademais, não foi possível realizar a análise comparativa entre a positividade de *Candida* e qual o método contraceptivo utilizado devido ao baixo número encontrado. Tais análises estão descritas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Prevalência de *Candida* spp. identificada por qPCR em mulheres atendidas no ambulatório de especialidades da UFFS em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo, de acordo com as características sociodemográficas, hábitos de vida e antecedentes clínicos. Passo Fundo, RS, agosto de 2021 a setembro de 2022. (n=144)

	<i>Candida</i> spp.				p*
	Positivo		Negativo		
Faixa etária (n=136)	n	%	n	%	
Entre 18 e 45 anos	21	28,8	52	71,2	0,660
Mais que 46 anos	16	25,4	47	74,6	
<b>Tabagismo (n=136)</b>					
Sim	6	26,1	17	73,9	0,895
Não/ex-fumante	31	27,4	82	72,6	
<b>Uso de preservativo (n=122)</b>					

Sim, sempre/ algumas vezes	11	31,4	24	68,6	0,671
Não	24	27,6	63	72,4	
<b>Método contraceptivo</b> (n=123)					
Sim	24	30,0	56	70,0	0,808
Não	12	27,9	31	72,1	
<b>Vaginose bacteriana prévia</b> (n=136)					
Sim	3	17,6	14	82,4	0,560
Não/não sabe/não lembra	34	28,6	85	71,4	
<b>Histórico de candidíase</b> (n=136)					
Sim	10	21,3	37	78,7	0,259
Não/não sabe/não lembra	27	30,3	62	69,7	
<b>Diabetes Mellitus</b> (n=136)					
Sim	3	18,8	13	81,3	0,556
Não/não sabe/não lembra	34	28,3	86	71,7	

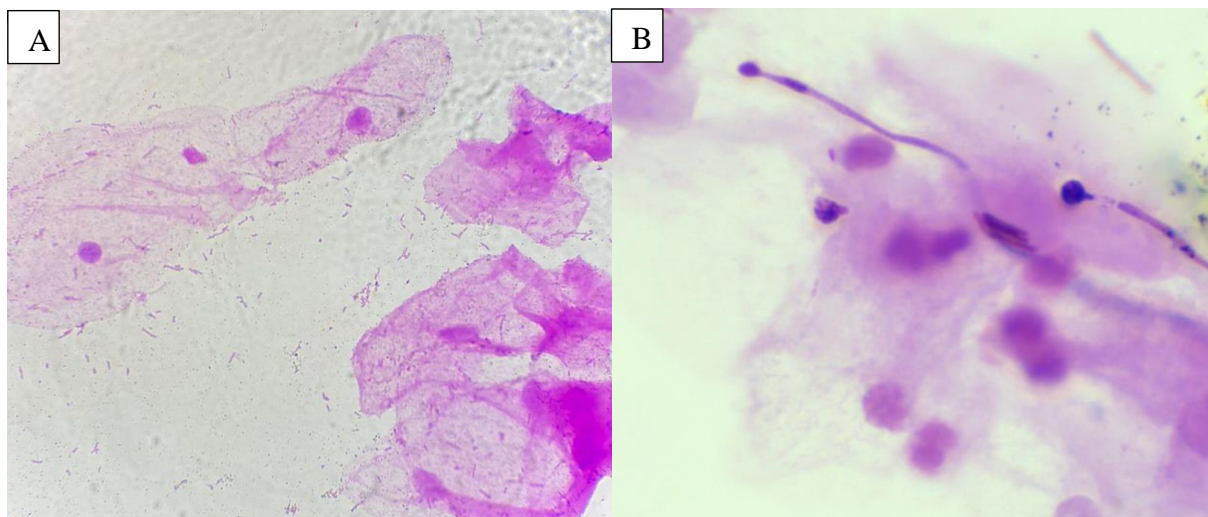
p\*: Teste de Qui-quadrado ou Teste Exato de Fischer (p<0,05).

Referente a análise das queixas clínicas, observou-se que 29,7% das pacientes com a positividade para *Candida* no qPCR apresentaram queixas de leucorreia. Relativo a dispareunia, 41,7% das participantes que relataram possuir o sintoma obtiveram resultado positivo no qPCR. A queixa de prurido foi relatada por 16,2% das pacientes positivas para a *Candida*. Ademais, referente a análise por microscopia optica, 10,8% das pacientes que positivaram para o fungo no qPCR obtiveram resultado positivo na microscopia, a partir da visualização de hifas e/ou esporos fúngicos. Não houve significância estatística nas variáveis analisadas. Tais análises estão descritas na Tabela 5.

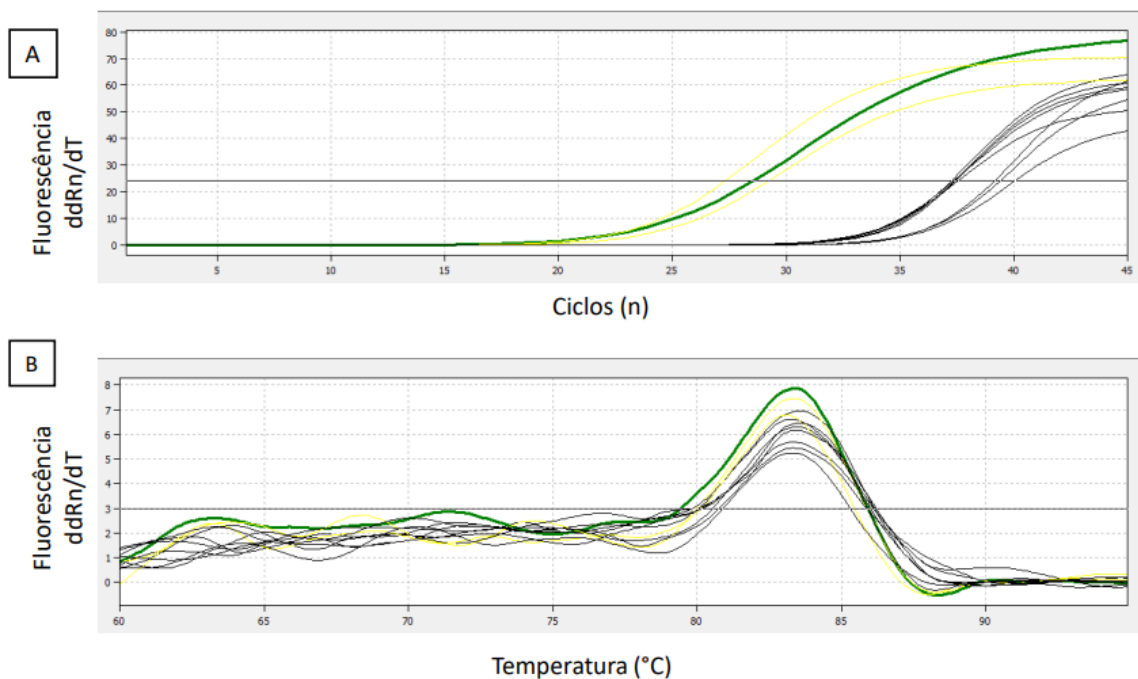
**Tabela 5.** Prevalência de *Candida* spp. identificada por qPCR em mulheres atendidas no ambulatório de especialidades da UFFS em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo, distribuídas conforme queixas clínicas e análise microscópica. Passo Fundo, RS, agosto de 2021 a setembro de 2022. (n=144)

qPCR <i>Candida</i>	Queixas clínicas e análise microscópica		p*
	Sim n(%)	Não n(%)	
	<b>Leucorreia</b>		
Positivo	11(29,7)	26 (70,3)	0,312
Negativo	21 (21,4)	77 (78,6)	
	<b>Dispareunia</b>		
Positivo	15 (41,7)	21 (58,3)	0,332
Negativo	32 (32,7)	66 (67,3)	
	<b>Prurido</b>		
Positivo	6 (16,2)	31 (83,8)	0,654
Negativo	19 (19,6)	78 (80,4)	
	<b><i>Candida</i> na microscopia</b>		
Positivo	4 (10,8)	33 (89,2)	0,238
Negativo	4 (4,0)	95 (96,0)	

p\*: Teste de Qui-quadrado ou Teste Exato de Fischer ( $p < 0,05$ ).



**Figura 1.** Fotomicrografia de esfregaço com conteúdo vaginal, sob coloração de Gram (aumento 1000x). **A.** Predomínio de células descamativas com lactobacilos (Flora I – microbiota normal). **B.** Presença de pseudohifas de *Candida* spp, evidenciado candidíase vaginal.



**Figura 2. A.** Curva de amplificação do gene ITS de *Candida* spp. **B.** Curvas de melting demonstrando especificidade de amplificação com os primers utilizados,  $T_M=83,3^\circ\text{C}$  (As amostras de controles positivos encontram-se em destaque (negrito); a linha horizontal representa o threshold; ddRn=fluorescência).

## DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou dados sociodemográficos e clínicos de mulheres submetidas ao exame citológico cérvico-vaginal atendidas pelo SUS, e determinou a prevalência de candidíase através da técnica de PCR em tempo real. Tais resultados são importantes para conhecimento das características locais a fim de se determinar protocolos de acompanhamento adequados no que se refere à saúde ginecológica.

Referente às características sociodemográficas, foi observado que a faixa etária predominante foi de mulheres entre 18 e 45 anos, estando as participantes em idade reprodutiva de acordo com a faixa etária estabelecida pelo Ministério da Saúde<sup>(8)</sup>. Embora não significativo, o número de pacientes nessa faixa de idade com candidíase foi maior, o que é esperado pela presença de estimulação estrogênica, diferente do que se observa na puberdade ou menopausa. Ainda, importante destacar que dados prévios<sup>(9)</sup> demonstram que justamente nessa idade as mulheres apresentam episódios mais frequentes de recorrência dessa infecção, no entanto, essa análise não foi realizada no presente estudo.

A prevalência de *Candida* spp. a partir da técnica de qPCR obtida foi de 26,4% e tal percentual é equivalente ao descrito na literatura<sup>(1)(10)</sup>. Importante ressaltar que fatores como aumento da umidade local favorecem a proliferação do fungo, situação comumente observada em regiões com temperaturas mais altas<sup>(11)</sup>, o que não é o caso do local estudado, mas que ainda sim obteve relevante percentual de positividade para *Candida*. E tal fato pode ser justificado pelos hábitos alimentares da região, que são compostos por alimentos tradicionalmente ricos em lactose e fermentáveis, fator que favorece a proliferação fúngica<sup>(12)</sup>.

Analisando os hábitos de vida das participantes, um estudo demonstrou uma associação entre o tabagismo e a presença de candidíase vulvovaginal em mulheres, com prevalência aproximada de 18%<sup>(13)</sup>. Sabe-se que o tabagismo afeta a microbiota vaginal, alterando a proporção de *Lactobacillus* spp.<sup>(14)</sup>, microrganismos que auxiliam no combate ao mecanismo reprodutivo da proliferação fúngica<sup>(15)</sup>. No entanto, essa associação entre a positividade para *Candida* spp. e o tabagismo ainda não está bem estabelecida pela literatura<sup>(16)</sup>. No presente estudo, embora não significativo pelo pequeno tamanho amostral dessa variável, observou-se que mais de um quarto (26,1%) das participantes que se declararam fumantes foram positivas para a *Candida*.

Relativo aos hábitos sexuais, 62,3% das mulheres do presente estudo relataram fazer uso de algum método contraceptivo e, dentre essas, 30% obtiveram resultado positivo no PCR para *Candida* spp. Estudos indicam que a prevalência do agente fúngico é maior em mulheres

que fazem uso de contraceptivos comparado àquelas que não utilizam nenhum método de contracepção, com percentual de cerca de 80%<sup>(17)</sup>, sendo o anticoncepcional oral e o dispositivo intrauterino (DIU) os mais associados a candidíase vulvovaginal<sup>(18)</sup>. No entanto, no presente estudo essa relação não obteve significância estatística como consequência do pequeno tamanho amostral.

Referente aos antecedentes clínicos, é descrita na literatura a presença de coinfeção entre a *Candida* spp. e os agentes da vaginose bacteriana<sup>(19)(20)</sup>. Tal relação pode ocorrer devido à mudança da microbiota vaginal e alteração da proporção e variedade de *Lactobacillus* spp. provocadas pela infecção bacteriana, que pode propiciar a proliferação fúngica<sup>(15)(21)(22)(23)</sup>. No presente estudo, 17,6% das participantes que possuem histórico de vaginose bacteriana obtiveram resultado positivo para *Candida* spp., no entanto, essa relação não pode ser confirmada por não possuir significância estatística. Outro antecedente também analisado foi o diagnóstico prévio de candidíase vulvovaginal. Estudos demonstram que a recorrência da candidíase é elevada assim como sua prevalência, com percentuais que variam entre 30 e 50%.<sup>(23)(24)(25)(26)(27)</sup>. Tal recorrência está associada a alterações na microbiota feminina e em hábitos comportamentais. Nesse estudo, 21,3% das participantes positivas para *Candida* spp. relataram história prévia de candidíase vulvovaginal, e tal porcentagem inferior à descrita na literatura pode estar relacionada à coleta de dados autorreferidos, ou seja, muitas mulheres podem não ter se lembrado de episódios anteriores ou não terem sido diagnosticadas previamente mesmo na vigência de infecção.

Ademais, é bem estabelecida na literatura a associação entre o diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM) e a positividade para *Candida* spp. Pacientes que possuem a diabetes com mal controle glicêmico possuem maior risco de desenvolver a candidíase devido ao aumento nos níveis de glicogênio, que beneficiam a proliferação fúngica<sup>(28)(29)</sup>. Estudos corroboram que a prevalência estimada de candidíase vaginal em mulheres diabéticas é de aproximadamente 19%<sup>(29)(30)</sup>. No presente estudo, a prevalência obtida de diabéticas positivas para *Candida* spp. foi de 18,8%, estando de acordo com o encontrado na literatura.

Dentre as queixas mais comumente relatadas pelas pacientes com candidíase vulvovaginal, têm-se o prurido, a leucorreia e a dispareunia<sup>(3)</sup>. O prurido é o sintoma mais frequentemente relatado pelas mulheres com proliferação de *Candida* spp., estando presente em aproximadamente 66% das pacientes<sup>(31)</sup>. No presente estudo, 16,2% das pacientes positivas apresentaram tal sintoma, resultado inferior ao encontrado na literatura, que no entanto é uma condição clínica muito frequente devido, especialmente, ao processo inflamatório agudo



característico provocado pela infecção fúngica.

A queixa de leucorreia, corrimento vulvovaginal, também é muito frequente, com percentuais que variam de 26 a 63% das mulheres positivas para *Candida* spp. apresentam o sintoma<sup>(31)(32)(33)</sup>. Nesse contexto, outros sintomas como a dispareunia, definida como desconforto durante a relação sexual, também é um sintoma presente em mulheres com candidíase<sup>(34)</sup>. Estudos apontam que o percentual de pacientes com essa queixa varia entre aproximadamente 24 e 32%<sup>(35)</sup>. No presente estudo observou-se que cerca de 29,7% das pacientes positivas para *Candida* spp. apresentaram queixas de leucorreia, enquanto 41,7% relatam desconforto durante a relação sexual e tais sintomas são consequência, principalmente, do intenso processo inflamatório ocasionado pela infecção fúngica, que ocasiona um extremo desconforto as mulheres.

Ademais, analisou-se a positividade para *Candida* spp. na qPCR e na microscopia, a partir da visualização de esporos e/ou hifas nas lâminas coradas pela técnica de coloração de gram. Dentre as pacientes que apresentaram resultado positivo no qPCR (26,4%), 10,8% delas obtiveram resultado positivo também na microscopia, resultado esse inferior ao apresentado em estudo que realizou mesma análise<sup>(36)</sup>. Tal divergência pode ser explicada pela maior sensibilidade da técnica molecular, bem como por limitações na confecção da lâmina, como esfregaço com pouco conteúdo ou má distribuição na lâmina, dificultando a visualização do fungo na microscopia óptica.

Assim sendo, é nítida a relevância que a candidíase vulvovaginal possui no âmbito da saúde e os fatores mais comumente associados a essa infecção. No entanto, o presente estudo apresenta limitações na coleta de algumas variáveis, devido ao auto referimento das mesmas pelas pacientes, bem como pelo tamanho amostral inferior ao esperado que pode justificar a não obtenção de significância estatística das variáveis analisadas. Apesar disso, o presente estudo possui como ponto forte a aplicação prática do uso de uma técnica molecular para avaliação diagnóstica, cujos resultados são relevantes uma vez que essa análise do conteúdo vaginal não é realizada na rotina do Sistema Único de Saúde. Além disso, também contempla a importância de se conhecer a prevalência da *Candida* spp., o perfil sociodemográfico e o histórico clínico da população local a fim de auxiliar no atendimento, nas hipóteses diagnósticas e na obtenção do melhor tratamento para as mulheres atendidas nesse sistema.

## CONCLUSÃO

Considerando a população estudada e os resultados obtidos, conclui-se que a

prevalência da infecção por *Candida* spp. está de acordo com a literatura e que os fatores mais frequentemente relacionados à proliferação fúngica são o mal controle glicêmico pelas pacientes diabéticas e o uso de métodos contraceptivos. Referente aos principais sintomas, os mais relatados pelas pacientes acometidas pela infecção fúngica são o prurido, a leucorreia e a dispareunia.

## REFERÊNCIAS

1. Ferraza MH, Maluf ML, Consolaro ME, Shinobu CS, Svidzinski TI, Batista MR. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* [Internet]. 2005 fevereiro [cited 2022 Sep 30];27(2):58-63. DOI 10.1590/s0100-72032005000200003. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/t5rVhVXhCB8YxgsYLpmC8Gj/abstract/?lang=pt>.
2. Lopez JE. Candidiasis (vulvovaginal). *BMJ Clin Evid* [Internet]. 2015 Mar 16 [cited 2022 Sep 30]:1-23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25775428/>
3. Ameen F, Moslem M, Al Tami M, Al-Ajlan AL, Al-Qahtani N. Identification of *Candida* species in vaginal flora using conventional and molecular methods. *Journal de Mycologie Médicale* [Internet]. 2017 Sep 15 [cited 2022 Sep 30];27(3):364-368. DOI 10.1016/j.mycmed.2017.04.105. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1156523317300252?via%3Dihub>
4. Pereira LC, Correia AF, Silva ZD, et al. Identification of *Candida* species in vaginal flora using conventional and molecular methods. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [Internet]. 2021 Mar 13 [cited 2022 Sep 30]:1681–1693. DOI 10.1007/s10096-021-04199-1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33713006/>
5. Paladine HL, Desai UA. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician* [Internet]. 2018 Mar 01 [cited 2022 Sep 30]:321-329. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671516/>
6. Boahen A, Than LTL, Loke YL, Chew SY. The Antibiofilm Role of Biotics Family in Vaginal Fungal Infections. *Front Microbiol*. 2022;13:787119. Published 2022 May 26. doi:10.3389/fmicb.2022.787119
7. Silva TN, Oliveira YM, Medeiros LE, Souza RM, Corrêa EA. *Candida* spp. de importância médica presente no Igarapé da Penal do município de Porto Velho-RO. *South American Journal* [Internet]. 2015 May 24 [cited 2022 Sep 30]:291-298. Available from: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/3009/2053>
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção

Básica. Saúde sexual e saúde reprodutiva / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 1. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 300 p. : il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 26)

9. Brown L, Chamula M, Weinberg S, Jbueen F, Rautemaa-Richardson R. Compliance with the Updated BASHH Recurrent Vulvovaginal Candidiasis Guidelines Improves Patient Outcomes. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(9):924. Published 2022 Aug 30. doi:10.3390/jof8090924
10. Batista JE, Oliveira AP de, Aragão FBA, Santos GRB dos, Lobão WJ de M, Cunha C da C, Santos T de S, Sousa CPC de, Rodrigues VP. Fatores associados à presença de *Candida* spp. em amostras de fluido vaginal de mulheres residentes em comunidades quilombolas. *Medicina (Ribeirão Preto)* [Internet]. 7 de agosto de 2020 [citado 6 de novembro de 2022];53(2):171-8. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/166251>
11. El-Din AA, Al-Basri HM, El-Naggar MY. Critical factors affecting the adherence of *Candida albicans* to the vaginal epithelium. *Journal of Taibah University for Science* [Internet]. 2022 Nov 10 [cited 2022 Oct 30];6(1):10-18. DOI 10.1016/j.jtusci.2012.10.001. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658365512000027>
12. Firmino L, Dias DP, Santos TG, Terra SN, Queiros VM. THE BENEFIT OF FOOD AND ITS USAGE AS COMPLEMENTARY THERAPY FOR RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDIASIS. ID on line Revista de Psicologia [Internet]. 2020 Dec 28 [cited 2022 Sep 30];14(53):913-925. DOI 10.14295/online.v14i53.2785. Available from: <https://online.emnuvens.com.br/id/article/view/2785>
13. Baliza AS, Carvalho EL, Mendes LS, et al. Smoking x Gynecological Conditions – a cross-section study. *Research, Society and Development Journal* [Internet]. 2020 Aug 23 [cited 2022 Oct 7];9(9):1-15. Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/7354>
14. Brotman RM, He X, Gajer P, et al. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2022 Oct 09 [cited 2022 Oct 7];14:1-11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4161850/>.
15. Jang SJ, Lee K, Kwon B, You HJ, Ko GP. Vaginal lactobacilli inhibit growth and hyphae formation of *Candida albicans*. *Scientific Reports* [Internet]. 2019 May 31 [cited 2022 Oct 7];9(1):1-20. DOI 10.1038/s41598-019-44579-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6544633/>
16. Sá MC, Sousa HR, Amaro CS, Pinheiro DN, Oliveira MM, Pinheiro MC. Isolamento de *Candida* no esfregaço cérvico-vaginal de mulheres não gestantes residentes em área ribeirinha do Estado do Maranhão, Brasil, 2012. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* [Internet]. 2014 março [cited 2022 Oct 7];5(1):25-34. DOI 10.5123/S2176-

62232014000100003. Available from:  
[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2176-62232014000100003](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232014000100003)

17. Salih SR, Haddad RA, Hassan SA. Prevalence of vulvovaginal Candidiasis and its association with Contraceptives. Zenodo [Internet]. 2021 Aug 19 [cited 2022 Oct 7];1-10. DOI 10.5281/zenodo.5224567. Available from:  
<https://www.redalyc.org/journal/559/55971452007/html/>.
18. Salvi M. Prevalence of vulvovaginal candidiasis in females in the reproductive age group. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology* [Internet]. 2019 Feb 06 [cited 2022 Oct 7];8(2):647-651. DOI 10.18203/2320-1770.ijrcog20190299. Available from:  
<https://www.ijrcog.org/index.php/ijrcog/article/view/5888#:~:text=Prevalence%20of%20vulvovaginal%20candidiasis%20was%20found%20to%20be%2031.6%25>.
19. Abdul-Aziz M, Mahdy M, Abdul-Ghan R. Bacterial vaginosis, vulvovaginal candidiasis and trichomonal vaginitis among reproductive-aged women seeking primary healthcare in Sana'a city, Yemen. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2019 Oct 22 [cited 2022 Oct 7];19(1):1-10. DOI 10.1186/s12879-019-4549-3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31640583/>.
20. Benyas D, Sobel JD. Mixed Vaginitis Due to Bacterial Vaginosis and Candidiasis. *Journal of Lower Genital Tract Disease* [Internet]. 2022 Jan 01 [cited 2022 Oct 7];26(1):68-70. DOI 10.1097/LGT.0000000000000641. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34840242/>.
21. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Annual Review of Medicine* [Internet]. 2000 fevereiro [cited 2022 Oct 7];51:349-356. DOI 10.1146/annurev.med.51.1.349. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10774469/>
22. Yuan D, Chen W, Qin J, Shen D, Qiao Y, Kong B. Associations between bacterial vaginosis, candida vaginitis, trichomonas vaginalis, and vaginal pathogenic community in Chinese women. *American Journal of Translational Research* [Internet]. 2021 Jun 15 [cited 2022 Oct 7];13(6):7148–7155. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8290683/>
23. Patel DA, Gillespie B, Sobel JD, Leaman D, Nyirjesy P, Weitz MV. Risk, et al. factors for recurrent vulvovaginal candidiasis in women receiving maintenance antifungal therapy: results of a prospective cohort study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [Internet]. 2004 Mar 03 [cited 2022 Oct 7];190(3):644-653. DOI 10.1016/j.ajog.2003.11.027. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15041994/>.
24. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [Internet]. 1998 Feb 03 [cited 2022 Oct 7];178(2):203-211. DOI 10.1016/s0002-9378(98)80001-x. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9500475/>.

25. Foxman B, Muraglia R, Dietz JC, Sobel JD, Wagner J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *Journal of Lower Genital Tract Disease* [Internet]. 2013 Jul 03 [cited 2022 Oct 7];17(3):340-345. DOI 10.1097/LGT.0b013e318273e8cf. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23486072/>.
26. Geiger AM, Foxman B. Risk factors for vulvovaginal candidiasis: a case-control study among university students. *Epidemiology* [Internet]. 1996 Mar 07 [cited 2022 Oct 7];7(2):182-187. DOI 10.1097/00001648-199603000-00013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8834559/>.
27. Blostein F, Sparenberg EL, Wagner J, Foxman B. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Annals of Epidemiology* [Internet]. 2017 Sep 07 [cited 2022 Oct 7];27(9):575-582. DOI 10.1016/j.annepidem.2017.08.010. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28927765/>.
28. Corrêa PR, David PR, Peres NP, Cunha KC, Almeida MT. Caracterização fenotípica de leveduras isoladas da mucosa vaginal em mulheres adultas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* [Internet]. 2009 abril [cited 2022 Oct 7];31(4):177-181. DOI 10.1590/S0100-72032009000400004. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/pFqwfj8n6x4D8CHTMnmbNk/?lang=pt>
29. GuntherI 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. *São Paulo Medical Journal* [Internet]. 2014 May 02 [cited 2022 Oct 7];132(2):116-120. DOI 10.1590/1516-3180.2014.1322640. Available from: <https://www.scielo.br/j/spmj/a/6sTVG6mZYnQfqgppqDtDzVp/?lang=en>
30. Adebisi OE, Oluwadun A, Daniel OJ, Oritogun RS, Fasanmade AA. Prevalence of Vulvovaginal Candidiasis Among Women with Diabetes mellitus in Ibadan, Oyo State, Nigeria. *Annals of Health Research* [Internet]. 2015 [cited 2022 Oct 7];1(2):55-61. Available from: <https://www.annalsofhealthresearch.com/index.php/ahr/article/view/11>
31. Holanda AA, Fernandes AC, Bezerra CM, Ferreira MA, Holand MR, Holanda JC et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* [Internet]. 2007 janeiro [cited 2022 Oct 7];29(1):3-9. DOI 10.1590/S0100-72032007000100002. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/fpN9V6TFhPcqKxLZ8TS4bVL/abstract/?lang=pt>
32. Lima HG, Santos JS, Markus GW, Pereira RA, Dias AK. Vulvovaginal candidiasis in primary health care: screening of women diagnosed in municipalities in the central region of the State of Tocantins, Brazil. *Research, Society and Development Journal* [Internet]. 2022 Jul 20 [cited 2022 Oct 7];11(9):1-8. DOI <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.29505>. Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/29505>

33. Mtibaa L, Fakhfakh N, Kallel A, Belhadj S, Salah NB, Bada N, et al. Vulvovaginal candidiasis in primary health care: screening of women diagnosed in municipalities in the central region of the State of Tocantins, Brazil. *Journal de Mycologie Médicale* [Internet]. 2017 Mar 15 [cited 2022 Oct 7];27(2):153-158. DOI 10.1016/j.mycmed.2017.01.003. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28314677/>
34. Itriyeva K. Evaluation of vulvovaginitis in the adolescent patient. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* [Internet]. 2020 Aug 08 [cited 2022 Oct 7];50(7):1-9. DOI 10.1016/j.cppeds.2020.100836. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32778468/>.
35. Rylander E, Berglund AL, Krassny C, Petrini B. Vulvovaginal candida in a young sexually active population: prevalence and association with oro-genital sex and frequent pain at intercourse. *Sexually Transmitted Infections BMJ* [Internet]. 2004 Feb 08 [cited 2022 Oct 7];80(1):54-57. DOI 10.1136/sti.2003.004192. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14755037/>.
36. Lynch T, Peirano G, Lloyd T, Read R, Carter J, Chu A, et al., Molecular Diagnosis of Vaginitis: Comparing Quantitative PCR and Microbiome Profiling Approaches to Current Microscopy Scoring. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2019 Aug 26 [cited 2022 Sep 30];57(9):1-13. DOI 10.1128/JCM.00300-19. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00300-19>

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluo esse estudo com muita gratidão a todo o conhecimento obtido no processo. Foi de extrema relevância para formação acadêmica e pessoal todas as etapas que o envolveu. Desde o contato com as pacientes para aplicação dos questionários ao processamento das amostras e obtenção dos resultados.

Ademais, com a obtenção dos resultados e a elaboração do artigo científico, conclui-se que os objetivos do estudo foram contemplados, tendo em vista que foi obtida a prevalência de *Candida* spp. bem como foi possível traçar os principais sinais e sintomas relacionados a infecção fúngica.

Referente as hipóteses inicialmente apresentadas, foi confirmada a estimativa da prevalência de *Candida* spp. cujo resultado obtido foi de 26,4%. A faixa etária mais acometida, bem como os principais sinais e sintomas clínicos também estão de acordo com as hipóteses iniciais, sendo o prurido, a leucorreia e a dispareunia os mais frequentes. A hipótese de concordância entre o diagnóstico de *Candida* por microscopia e qPCR não foi confirmada, pois a prevalência obtida (10,8%) foi inferior a inicialmente esperada (94%). Não foi possível tipificar a determinar quais as espécies mais prevalentes, como era objetivado inicialmente.

Por fim, é esperado que o presente estudo auxilie na caracterização das pacientes mais acometidas pela *Candida* spp., bem como as principais características clínicas associadas e os fatores que propiciam o desenvolvimento dessa infecção fúngica, a fim de auxiliar no diagnóstico e tratamento correto da doença, ocasionando melhorias na qualidade de vida e saúde das mulheres que buscarem atendimento no Sistema Único de Saúde.