

UNIVERSIDAD DE CARABOBO NÚCLEO ARAGUA. VENEZUELA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis

Lic. Vilma Llovera Suárez¹ y Lic. Mayda Rosa Perurena Lancha²

RESUMEN

Se realizó un estudio en 404 mujeres que asistieron al Laboratorio de Microbiología del hospital Gineco-Obstétrico "Ramón González Coro" de Ciudad de La Habana. El propósito de esta investigación fue identificar especies de levaduras aisladas de exudados vaginales, registrar los signos y síntomas clínicos e identificar los factores de riesgo asociados a la infección. Las levaduras aisladas fueron identificadas mediante las pruebas de filamentación en suero, producción de clamidoconidias y asimilación de carbohidratos. Se encontró que 138 (34,16 %) de las mujeres albergaban levaduras en la vagina, se identificaron 3 géneros: *Candida* (88,49 %), *Trichosporon* (10,79 %) y *Rhodotorula* (0,72 %). El prurito y el ardor mostraron significación estadística ($p < 0,01$); el embarazo, el uso de dispositivo intrauterino (DIU) y la terapia con antibacterianos resultaron los factores de riesgo más frecuentes en relación con la presencia de *Candida* en la vagina.

DeCS: CANDIDA, CANDIDIASIS VULVOVAGINAL; FACTORES DE RIESGO; SINTOMAS CLINICOS; TRICHOSPORON; RHODOTORULA; LEVADURAS.

La incidencia de infecciones por levaduras del género *Candida* se ha incrementado en los últimos 30 años, asimismo ha aumentado la frecuencia de candidiasis vulvovaginal.^{1,2}

Se estima que 75 % de las mujeres padecen al menos un episodio de candidiasis vulvovaginal durante su vida, y 40 a 50 % desarrolla infección vaginal recurrente por *Candida albicans* y adicionalmente en 5 % de las mujeres adultas se presentan episodios de candidiasis vulvovaginal recurrente refractaria al tratamiento.^{2,3} Los progresos en la comprensión de la patogénesis y epidemiología de la candidiasis vulvovaginal recurrente fueron escasos durante muchos años

por causa de la falta de un sistema de identificación de *Candida albicans* que diferenciara entre recidiva y reinfección,¹ porque básicamente el diagnóstico se realizaba solo de forma clínica sin confirmación por estudio micológico de laboratorio.

Actualmente, sería interesante someter este criterio a nuevas discusiones, considerando el conocimiento de que hasta 20 % de la candidiasis vulvovaginal son ocasionadas por especies del género *Candida* distintas a *C. albicans* y por otros géneros de levaduras que no producen filamentos al parasitar,¹⁻⁴ cuyos síntomas pueden ser clínicamente casi indistinguibles de los causados por *C. albicans*.^{4,5}

¹ Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Bioanálisis. Profesora Agregada. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua.

² Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Microbiología. Investigadora Agregada. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

En Cuba, como en otros países, la candidiasis vulvovaginal no es una enfermedad de reporte obligatorio por lo que se desconoce la proporción de la población afectada. Esta generalmente es diagnosticada por los signos y síntomas clínicos acompañados o no por un examen directo del flujo vaginal, sin realizar la debida confirmación mediante el cultivo micológico que permita identificar la especie causal. Este estudio se planteó precisamente, identificar las cepas de levaduras y clasificarlas de acuerdo con el número de colonias aisladas de secreción vaginal de las pacientes que acudían a la consulta con sospechas de candidiasis vulvovaginal, registrar los signos y síntomas clínicos presentes en estas mujeres e identificar los factores de riesgo asociados.

MÉTODOS

El estudio se realizó en una población de 404 mujeres que acudieron al Laboratorio de Microbiología del Hospital Gineco-Obstétrico "Ramón González Coro" de Ciudad de La Habana desde el 16 de julio hasta el 31 de agosto de 1999, referidas de las consultas de ginecología y obstetricia para practicarles exudado vaginal. A cada paciente se le realizó una encuesta para conocer datos clínicos y epidemiológicos relacionados con el motivo de la consulta.

El exudado vaginal fue tomado de la pared posterior de la vagina o fondo de saco vaginal, colocando previamente espéculo sin lubricante, usando hisopo de algodón estéril.⁶ Una vez obtenida la muestra, esta fue inoculada con el hisopo en placas de agar Sabouraud cloranfenicol para el aislamiento primario; incubadas por 48-72 h a 28 °C, tras las cuales se realizó un recuento del número de colonias de levaduras aisladas. Se aplicó el criterio utilizado por Higashide y otros⁷ de acuerdo con el cual se define como colonización hasta 10 colonias y se considera infección cuando se recuperan más de 10 colonias.

Los aislamientos obtenidos fueron subcultivados en agar Sabouraud por 48 h y se procedió entonces a la identificación primaria de *Candida albicans*. Cada cepa fue inoculada en 0,5 mL de suero humano y después de 2-3 h de incubación a 37 °C, se practicó un examen microscópico en busca de la producción de tubos germinativos. Se

realizó la prueba de filamentación mediante la siembra en agar harina de maíz con Tween 80, y al cabo de 48 h de incubación a 28 °C se examinaron al microscopio los cultivos, en busca de la producción de clamidoconidias terminales que identifican a *Candida albicans*, así como, la producción o no de seudomicelio o micelio verdadero, blastoconidias y artroconidias características de las otras especies de levaduras.⁶

La identificación definitiva de todas las especies se realizó mediante la prueba de asimilación de carbohidratos siguiendo la metodología empleada por el laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

Análisis estadístico

La muestra de la población fue calculada tomando en cuenta un error de 5 % y las proporciones de los resultados fueron comparadas mediante la prueba de chi cuadrado (X^2) con corrección de Yates y sin esta, utilizando el programa EpiInfo,⁸ con un nivel de significación de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

En 138 (34,16 %) muestras de exudado vaginal analizadas se observó desarrollo de hongos levaduriformes en el medio de agar Sabouraud cloranfenicol y se obtuvo un total de 139 aislamientos, porque de una muestra se aislaron 2 tipos de colonias diferentes que fueron trabajadas por separado. Los aislamientos fueron identificados y clasificados en 3 géneros: 123 aislamientos (88,49 %) pertenecieron al género *Candida*, 15 (10,79 %) pertenecían a *Trichosporon* y 1 (0,72 %) fue clasificado como *Rhodotorula*.

Siguiendo el criterio de Higashide y otros⁷ se encontró 51,8 % de colonización vaginal por levaduras (72 mujeres) y se registró 48,20 % de mujeres infectadas.

En la tabla 1 se muestra que *C. albicans* fue la especie más frecuentemente identificada con 67 aislamientos distribuidos casi en igual proporción en ambas categorías, seguida por *C. glabrata* con 24 aislamientos y *C. lusitaniae* que ocupó el tercer lugar. No pudieron ser identificados hasta especie

TABLA 1. Frecuencia de especies de *Candida* aisladas de exudados vaginales

Especies	Categorías		Total N
	Colonización N* (%)**	Infección N (%)	
<i>Candida albicans</i>	33 (49,25)	34 (50,75)	67
<i>Candida glabrata</i>	10 (41,77)	14 (58,73)	24
<i>Candida lusitanae</i>	5 (50,00)	5 (50,00)	10
<i>Candida parapsilosis</i>	4 (57,14)	3 (42,86)	7
<i>Candida tropicalis</i>	4 (57,14)	3 (42,86)	7
<i>Candida humicola</i>	2 (100)		2
<i>Candida kefyr</i>		1 (100)	1
<i>Candida krusei</i>	1 (100)		1
<i>Candida</i> spp	1 (25,00)	3 (75,00)	4
Total	60 (48,78)	63 (51,22)	123

* N: número de aislamientos, ** (%): porcentaje de aislamientos.

4 aislamientos, con el sistema de identificación empleado por los autores de este trabajo. De estos 3 correspondían a infección y 1 a colonización. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre el número de colonias aisladas en cada categoría en las diferentes especies identificadas.

En las pacientes a quienes se les aisló a partir del exudado vaginal realizado las diferentes especies de *Candida* (tabla 2), la presencia de leucorrea de aspecto blanco o amarillo fue el signo predominante en ambas categorías de aislamientos, seguido por el prurito 18 (66,67 %) en infección y 9 (33,33 %) en colonización. El síntoma ardor predominó en la categoría infección en 78,95 %. Se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,01$) entre las categorías colonización e infección en los síntomas de prurito y ardor.

Con respecto a los factores de riesgo asociados a la candidiasis (tabla 3) se encontró que más de 60 % de los aislamientos estuvieron relacionados con factores de riesgo; 22 de estos correspondían a mujeres embarazadas y se distribuyeron en igual proporción (50 %) en ambas categorías. Otras 22 pacientes utilizaban dispositivo intrauterino (DIU) como método de control de natalidad, en su mayoría, 59,09 % se agruparon en la categoría de infección. En 17 casos las mujeres declararon estar en terapia

TABLA 2. Frecuencia de signos y síntomas asociados al aislamiento de *Candida* spp en mujeres

Signos y síntomas	Colonización N (%)	Infección N (%)	Total N
Leucorrea	20 (57,14)	15 (42,86)	35
Prurito	9 (33,33)	18 (66,67)	27
Ardor	4 (21,05)	15 (78,95)	19
Dolor	6 (50,00)	6 (50,00)	12
Total de aislamientos	60 (48,78)	63 (51,22)	123

N: número de aislamientos, (%): porcentaje de aislamientos, †: $p < 0,01$.

Fuente: encuesta realizada a las mujeres.

TABLA 3. Frecuencia de factores de riesgo asociados al aislamiento de *Candida* spp en exudado vaginal

Factores	Colonización N (%)	Infección N (%)	Total N
Embarazo	11 (50,00)	11 (50,00)	22
Uso de DIU	9 (40,90)	13 (59,09)	22
Terapia con antibacterianos	7 (41,17)	10 (58,83)	17
Anticonceptivos orales	2 (66,66)	1 (33,44)	3
Dos factores:	5 (71,42)	2 (28,67)	7
Embarazo y terapia con antibacterianos			
Uso de DIU y terapia con antibacterianos			
Diabetes		2 (100)	2
No declarado	26 (52,00)	24 (48,00)	50
Total de aislamientos	60 (48,78)	63 (51,22)	123

N: Número de aislamientos, (%): porcentaje de aislamientos.

Fuente: encuesta realizada a las mujeres.

con antibacterianos y el mayor número de estas se ubicó en la categoría infección con 58,83 %; 7 mujeres declararon 2 factores simultáneamente: embarazo y antibacterianos o uso de DIU y antibacterianos, y de ellas 66,66 % quedó incluido en la categoría de colonización. En otros aislamientos (40,65 %) las mujeres declararon no estar sometidas a ninguno de los factores investigados. No se encontró diferencia estadística significativa al relacionar ambas categorías de aislamientos con algunos de los factores de riesgo declarados.

Por otra parte un hallazgo interesante de este trabajo lo constituye el aislamiento de *Trichosporon* spp. en 15 de los exudados vaginales realizados, 11 de estos correspondieron a la categoría colonización y 4 pueden ser considerados responsables de infección. En esta última categoría 3 mujeres consultaron para diagnóstico de infección vaginal, 2 de ellas presentaban leucorrea y 3 refirieron haber tenido candidiasis 1 año antes.

DISCUSIÓN

El criterio para el diagnóstico de la candidiasis vulvovaginal durante muchos años se ha basado en la combinación de signos y síntomas y en la confirmación por estudio micológico de la presencia de hongos levaduriformes; donde una clave importante es la demostración de filamentos acompañando a las blastoconidias en el examen microscópico directo, lo cual es un índice de la capacidad invasiva de *C. albicans*.^{4,9,10} Sin embargo, se ha comunicado una baja sensibilidad del examen microscópico directo^{4,11} y de la interpretación del recuento de colonias en el medio de aislamiento primario como método para el diagnóstico de la candidiasis vulvovaginal. Es por eso que se adoptó en este estudio el criterio utilizado por primera vez por Higashide y otros en 1988⁷ que muestra una correlación de 67 % entre la visualización de levaduras al examen directo y el crecimiento de más de 10 colonias en el cultivo de un exudado vaginal.¹⁰

La demostración de *Candida albicans* como la principal levadura aislada por los autores de este trabajo tanto en mujeres sanas como en aquellas que presentaban candidiasis vaginal y de *C. glabrata* como segundo agente etiológico en orden de frecuencia, coincide con lo informado por otras investigaciones.^{1,5,10-14} La aparición de *C. glabrata* en segundo lugar está documentada desde la década de 1970¹ y se atribuye a tratamientos cortos con azoles tópicos y al amplio uso de tratamiento profiláctico con fluconazol.¹⁴ En Cuba, durante una investigación realizada por Fernández y otros en un Hospital de Maternidad de la ciudad de La Habana se aislaron 68 cepas de levaduras pertenecientes al género *Candida* y se reportaron en segundo lugar en frecuencia a *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*, con 3 aislamientos de cada una.¹²

La leucorrea y el prurito son característicos de la candidiasis vaginal ocasionada por *C. albicans*; sin embargo, la baja proporción en que fueron encontrados en este estudio difiere de lo señalado por otros autores, quienes muestran proporciones más elevadas de mujeres con estos signos y síntomas objetivamente evaluados.^{10,12} Al mismo tiempo este resultado, unido a que la mayoría de las mujeres a quienes se les aisló alguna especie

de *Candida* no refirieron muchos de los signos y síntomas asociados frecuentemente a esta patología,^{2,9,11,13} coincide con otras investigaciones las cuales refieren que la intensidad de los síntomas no está relacionada con el número de levaduras presentes y sugieren que estos son producto de una reacción inmunológica. No obstante, sí se encontró asociación estadística entre el prurito y los recuentos de levaduras mayores de 10 colonias en el aislamiento primario.^{7,10}

Por otra parte la significación estadística que muestra el síntoma ardor entre las categorías de colonización e infección, podría deberse, a que las mujeres con vaginitis por *C. glabrata* en su mayoría solo refieren este síntoma; tal vez, por la ausencia de filamentos en esta especie, no se presenta reacción inflamatoria ni leucorrea, otra posible explicación es la presencia de enfermedad asintomática o tal vez, que el uso periódico de antimicóticos tópicos está propiciando la aparición de resistencia en las levaduras y/o su adaptación a la vagina.

En cuanto a los factores de riesgo asociados a la candidiasis vulvovaginal, el embarazo constituyó en este estudio el más encontrado, tal y como se ha reportado previamente. Esto se asocia con la inmunosupresión que induce.^{2,4,9,12} Sin embargo, la ausencia de asociación estadística entre este y el número de levaduras en el cultivo primario sí contrasta con lo comunicado por otros autores.³

En resumen, como ya se dijo en los resultados, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al relacionar colonización e infección por *C. albicans* y los factores descritos como de riesgo para una candidiasis vaginal. A pesar de que estos son citados por muchas publicaciones acerca del tema, no existe un consenso para explicar cómo predispone en cada caso, por lo que la candidiasis vaginal continúa siendo considerada como una enfermedad oportunista donde coinciden factores del huésped, del patógeno y del microambiente vaginal que la desencadenan.^{1-3,15,16}

Por último se concedió importancia a los aislamientos de *Trichosporon* logrados durante el estudio porque aunque la patogenicidad de este género debe continuar en estudio, se sabe que puede comportarse como patógeno oportunista.^{13,17}

Se conoce, por ejemplo, que algunas especies de *Trichosporon* colonizan el ano y la región

perianal de hombres homosexuales,^{13,17} y que otras que causan piedra blanca en la región genitopúbica son consideradas una de las principales causas de intertrigo inguinal en mujeres jóvenes sexualmente activas de áreas de África ecuatorial.¹⁸

Los autores de este trabajo piensan que los resultados obtenidos sugieren la necesidad de continuar los estudios de vigilancia que permitan llegar a la completa identificación de las especies fúngicas involucradas en la candidiasis vulvovaginal y a un conocimiento más profundo de la epidemiología de las infecciones vaginales causadas por hongos.

SUMMARY

A study of 404 women that attended the Microbiology Laboratory of "Ramón González Coro" Gynecobstetric Hospital, in Havana City, was conducted aimed at identifying species of yeasts isolated from Pap smears, registering the signs and clinical symptoms and determining the risk factors associated with infection. The isolated yeasts were identified by the filamentation tests in serum, production of chlamydoconidia and carbohydrate assimilation. It was found that 138 (34.16 %) of women had yeasts in the vagina. 3 genera were identified: *Candida* (88.49 %), *Trichosporon* (10.79 %) and *Rhodotorula* (0.72 %). Pruritus and heat showed statistical significance ($p < 0.01$). Pregnancy, the use of IUD and the antibacterial therapy proved to be the most common risk factors in relation to the presence of *Candida* in the vagina.

Subject headings: CANDIDA, CANDIDIASIS, VULVOVAGINAL; RISK FACTORS; SYMPTOMS, CLINICAL; TRICHOSPORON; RHODOTORULA; YEASTS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Horowitz B, Gianquinta D, Ito S. Evolving pathogens in vulvovaginal Candidiasis: Implications for Patient Care. *J Clin Pharmacol* 1992;32(3):248-55.
- Rein M. Vulvovaginitis y cervicitis. En: Mendell G, Dolin R, Benett J. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. 4^a ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 1997.
- Sobel J, Chaim W. Update on treatment of vulvovaginal candidiasis. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13:44-6.
- Benesson A. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. 16 ed. Washington DC: Organización Panamericana de Salud; 1999. p.28-30 (Publicación Científica N° 564).
- Bengtson J. The vagina. En: Kistner's Gynecology principles and practice. 6^a ed. Mosby: St. Louis; 1990 p. 87.
- Koneman. Diagnóstico Microbiológico. 3^a ed. México, DF: Editorial Panamericana; 1998.
- Higashide K, Aman R, Yamamuro O. Clinical characteristic correlated with different fungi causing vulvovaginal mycosis. *Mycoses* 1984;31(4):213-25.
- EpiInfo Software (Centers for Diseases Control, Atlanta, Georgia, USA; World Health Organization, Geneva, Switzerland).
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México, DF: Méndez Editores; 2000.
- Odds F, Webster C, Mayuranathan P, Simmons P. Candida concentrations in the vagina and their association with signs and symptoms of vaginal candidosis. *J Med Vet Mycol* 1988;26:277-83.
- Senf H, Korte W. Epidemiology, Pathology and Clinical Features of Genital Mycoses -1981 Status. *Chemotherapy* 1982;28(Suppl.1):3-13.
- Fernández C, Echemendía Y, Cartaya T, Mendoza D. Sensibilidad *in vitro* a la nistatina de aislamientos vaginales de *Candida* spp. *Rev Cubana Med Trop* 2001;53(3):194-8.
- Rippon J. Medical Mycology. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. 3^a ed. Philadelphia. W.B. Saunders; 1988.
- Fidel P Jr, Vázquez J, Sobel J. *Candida glabrata*: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):80-96.
- Ryley J. Pathogenicity of *Candida albicans* with particular reference to the vagina. *J Med Vet Mycol* 1986;24:5-22.
- Sobel J, Chaim W. Vaginal microbiology of women with acute recurrent vulvovaginal candidiasis. *J Clin Microbiol* 1996;34(10):2497-9.
- Guého E, Faegerman J, Lyman C, Anaissie J. *Malassezia* and *Trichosporon*: two emerging pathogenic basidiomycetous yeast-like fungi. *J Med Vet Mycol* 1994;132(Suppl1):367-78.
- Thérizol-Ferly M, Kombila M, Gómez de Díaz M. White piedra and *Trichosporon* species in equatorial Africa II. Clinical and mycological association an analysis of 449 superficial inguinal specimens. *Mycoses* 1994;37:255-60.

Recibido: 2 de agosto de 2003. Aprobado: 4 de noviembre de 2003.

Dra. Vilma Llovera Suárez. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua, Av. Ruiz Pineda, Barrio La Morita II, Maracay, Estado Aragua, Venezuela. Correo electrónico: federicollovera@cantv.net.ve; ctipk@ipk.sld.cu