

Susceptibilidad de levaduras vaginales a los antifúngicos más utilizados en Maringá, Paraná, Brasil

Susceptibility to vaginal yeast in most used antifungal in Maringá, Paraná, Brazil

- Kelen Fátima Dalben Dota¹, Cristiane Suemi Shinobu², Eliana Valéria Patussi³, Marcia Edilaine Lopes Consolaro⁴, Terezinha Inez Estivalet Svidzinski⁵

1. Especialista en Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.
2. Farmacêutica-Bioquímica. Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.
3. Dr. en Biología Celular. Pesquisador de la Micología Médica. Departamento de Análises Clínicas de la Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.
4. Dr. en Biología Celular. Profesor de Citología Clínica. Departamento de Análises Clínicas de la Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.
5. Dr. en Micología Médica. Profesor de Micología Médica. Departamento de Análises Clínicas de la Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

Resumen

Se determinó la susceptibilidad antifúngica *in vitro* de 78 cepas de levaduras aisladas de mujeres de la ciudad de Maringá/Paraná, Brasil, con candidiasis vulvovaginal (CVV), atendidas en el Laboratorio de Enseñanza e Investigación en Análisis Clínicos (LEPAC) de la Universidad Estatal de Maringá, desde el 1 de enero 2005 al 31 de diciembre 2006. Su sensibilidad *in vitro* fue investigada por el método de microdilución frente a ketoconazol (KETO), fluconazol (FLU), itraconazol (ITRA), nistatina (NIS) y anfotericina B (AMB). Para KETO, 41,5% de las cepas de *C. albicans* y 96% de *Candida* no-*albicans* presentaron resistencia (100% de *C. glabrata*) y para FLU solamente el 3,8% de los aislamientos de *C. albicans* y el 8,0% de *C. glabrata* fueron resistentes. Sólo 1,9% de las cepas de *C. albicans* y 20% de las de *C. no-albicans* fueron resistentes a ITRA y el 5,7% de las *C. albicans* y el 8% de las *C. no-albicans* (sólo *C. glabrata*) fueron resistentes a AMB. No hubo aislamientos resistentes a NIST, pero sí una elevada frecuencia de sensibilidad dosis dependiente "*in vitro*". Estos datos avalan la creciente necesidad de la realización de pruebas de identificación y susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos para establecer el correcto tratamiento de la CVV.

Palabras clave: candidiasis vulvovaginal * tratamiento * antifúngicos * resistencia *in vitro*

Summary

In vitro antifungal susceptibility was determined in the 78 yeasts isolated from patients with vulvovaginal candidiasis (VVC) from the city of Maringá/Paraná/Brazil, assisted in the Laboratory of Teaching and Research in Clinical Analysis of the State University of Maringá, from 01 January 2005 to December 31, 2006. Its sensitivity *in vitro* was tested according to microdilution method in front of ketoconazol (KETO), fluconazole (FLU), itraconazole (ITRA), nistatin (NIS) and amphotericin B (AMB). For KETO, 41.5% of the *C. albicans* and 96.0% of the *C. non-albicans* showed resistance

(100.0% of *C. glabrata*) and for FLU, only 3.8% of the isolates of *C. albicans* and 8.0% of *C. glabrata* showed resistance. Only 1.9% of the *C. albicans* and 20% of the *C. no-albicans* were resistant. For AMB, 5.7% of the *C. albicans* and 8% of the *C. no-albicans* (only *C. glabrata*), were resistant. There were no isolations resistant from NIST, however, there was a high frequency of dose-dependent sensibility (SDD) *in vitro*. These data makes it possible to confirm the growing necessity of the performance of identification tests and *in vitro* antifungal susceptibility to antifungals to establish the correct treatment of CVV.

Key words: vulvovaginal candidiasis* treatment* antifungal* *in vitro* resistance

Introducción

El arsenal terapéutico disponible para el tratamiento de las infecciones fúngicas es restringido. La anfotericina B (AMB) es un excelente recurso terapéutico, con elevada eficacia contra levaduras y hongos filamentosos, pero su empleo se limita a cuadros graves, debido a su elevada toxicidad.

El fluconazol (FLU), entre los azoles, es el más usado en casos de candidiasis, no obstante, el desarrollo de resistencia por cepas de *C. albicans* y *no-albicans*, debido a la selección ocurrida cuando las especies resistentes al antifúngico administrado se sobreponen a las demás, al no ser afectadas (1).

Por ello, queda claro el interés en la identificación certera de cada levadura aislada, en vista de los diferentes patrones de susceptibilidad de las especies en relación con los antifúngicos.

Los clínicos requieren la identificación certera de las especies causantes de candidiasis vulvovaginal (CVV), para definir la terapéutica a emplear (2), debido a que su frecuencia ha aumentado en los últimos años, tornando este diagnóstico cada vez más común en ginecología (3) (4).

Sin embargo, entre 5-25% de las pacientes presentan recurrencias (CVVR), definidas como la presencia de cuatro o más episodios sintomáticos en un año (4) (5).

La CVV es causada por levaduras que habitan normalmente las mucosas y afecta a millones de mujeres cada año, comprometiendo principalmente vulva y vagina. Actualmente, es la vaginitis más frecuente en Estados Unidos y Brasil (3) después de la vaginosis bacteriana, representando 20-25% de las secreciones vaginales infecciosas, mientras que en Europa es la primera causa de vulvovaginitis (4) (6).

Se estima que cerca de 75% de las mujeres adultas presentan por lo menos un episodio de CVV en su vida; de ellas, 40-50% manifestarán nuevas irrupciones, y en 5% se desarrollarán CVVR (1).

Para Sobel (1), la CVV es causada predominantemente por levaduras del género *Candida* (4); 80-90% por *C. albicans* y 10-20% por otras especies (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae*). Otros géneros involucrados son *Saccharomyces*, *Rhodotorula* y *Trichosporon* (7-9).

Estudios recientes demostraron en algunas poblaciones el aumento de la frecuencia del aislamiento de *C. no-albicans* (9) (10), siendo *C. glabrata* la segunda especie en frecuencia en las CVV (3) (11-13). La causa de este incremento no ha sido bien definida, aunque algunos autores lo atribuyen al aumento del uso de antifúngicos en dosis inadecuadas o en forma incompleta (1) (14) (15). Esto ocasionaría la eliminación de las cepas de *C. albicans* más sensibles, seleccionando las de *C. no-albicans* más resistentes (9) (10). Además, estas últimas parecen ser intrínsecamente menos sensibles a los azólicos, antifúngicos de elección para el tratamiento de esta patología (16).

Las hipótesis mencionadas podrán ser comprobadas o no, estableciendo el perfil de susceptibilidad de las levaduras del género *Candida* en diferentes poblaciones de pacientes con CVV, en vista de que existen características regionales en relación con el tratamiento.

La propuesta de este trabajo fue determinar la susceptibilidad *in vitro* de diferentes levaduras aisladas de pacientes con CVV de Maringá/Paraná, Brasil frente a los antifúngicos más empleados en la práctica clínica.

Materiales y Métodos

LEVADURAS

Fueron incluidas en el estudio las levaduras aisladas por cultivo del flujo vaginal de mujeres portadoras de CVV, según criterios definidos por Consolaro *et al.* (10). Las mismas fueron atendidas en el Laboratorio de Enseñanza e Investigación en Análisis Clínicos (LEPAC) de la Universidad Estatal de Maringá-Paraná, Brasil, desde el 1 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2006.

OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras, obtenidas del fondo de saco vaginal con hisopo estéril, previa colocación de espéculo vaginal descartable (Vagispec), fueron inmediatamente sembradas en placas con agar glucosado de Sabouraud (SDA) (Difco, Detroit, EE.UU.) adicionado de 100 mg/mL de cloranfenicol, e incubadas a 25 °C hasta cinco días (10).

Un conjunto de las colonias crecidas en cada placa fue subcultivado en CHROMagar Candida® (Probac, França) y a partir del cultivo puro, las levaduras fueron identificadas fenotípicamente por la metodología clásica (10) y fueron confirmadas genotípicamente por la amplificación de secuencias especie-específicas del ADN ribosómico según Sugita *et al.* (17).

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO A LOS ANTIFÚNGICOS

Las levaduras fueron probadas con el método de microdilución en caldo, según fue descrito por el Clinical and Laboratory Estándar Institute (CLSI, ex NCCLS) (18), y todo el ensayo siguió las orientaciones de este documento.

ANTIFÚNGICOS PROBADOS

Los antifúngicos evaluados fueron FLU (Pfizer Inc, New York, NY, USA), ITRA, KETO (Janssen Pharmaceutical, Titusville, NJ, USA), AMB (Squibb Pharmaceutical, Princeton, NJ, USA) y NIS (Sigma Pharma-St Louis, MO, USA).

CRITERIOS DE LECTURA PARA LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM)

Según preconiza el CLSI (18), la CIM para los azólicos se define como el primer pocillo que presenta una reducción o una inhibición de 50% en el crecimiento fúngico, cuando se la compara con el desarrollo del control positivo, sin la presencia de ningún tipo de droga.

La AMB y la NIS se definieron como la menor concentración capaz de inhibir algún crecimiento visual, mientras que la CIM₅₀ y CIM₉₀ fueron definidas como la CIM de 50% y 90% de los aislamientos, respectivamente.

CRITERIOS DE LECTURA PARA LA CIM

Fueron considerados sensibles los aislamientos con valores de CIM de ≤ 8 $\mu\text{g/mL}$ para FLU, ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$ para NIS, $\leq 0,125$ $\mu\text{g/mL}$ para ITRA y KETO, y ≤ 1 $\mu\text{g/mL}$ para AMB. Los aislamientos con CIM entre 16 y 32 $\mu\text{g/mL}$ para FLU, 8 a 32 $\mu\text{g/mL}$ para nistatina NIS y 0,25 a 0,5 $\mu\text{g/mL}$ para itraconazol ITRA y ketoconazol KETO fueron considerados sensibles dosis-dependientes (SDD). Valores de CIM de ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$ para FLU y NIS, ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ para ITRA y KETO, y ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$ para AMB, fueron considerados resistentes a los agentes antifúngicos.

Resultados

De los 78 aislamientos obtenidos, 53 pertenecían a *C. albicans*, 11 a *C. glabrata*, 6 a *C. guilliermondii*, 3 a *C. parapsilosis*, 1 a *C. lusitaniae*, 2 a *Saccharomyces cerevisiae*, 1 a *Trichosporon asahii* y 1 a *Rhodotorula* sp.

Como se observa en la Tabla I, las cepas de *C. albicans* mostraron gran variación de la CIM para KETO, FLU, ITRA y AMB, mientras que en las de *C. no-albicans* la variación no fue tan grande, con excepción de *C. glabrata*, para FLU y AMB.

En cuanto a los valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ (Tabla II) para las cepas de *C. albicans*, la mayor variación ocurrió para FLU, y luego para KET, AMB e ITRA. Entre las cepas de *C. no-albicans*, sólo *C. glabrata* presentó gran variación para FLU, ITRA y AMB. Para todos los demás aislamientos, la variación entre CIM₅₀ y CIM₉₀ fue pequeña.

De las 53 cepas de *C. albicans* estudiadas, no hubo aislamientos SDD para FLU y AMB, que si fueron observados para KETO, ITRA y NIS en 19 (35,8%), 4 (7,5%) y 42 (79,3%) aislamientos, respectivamente. Veintidós cepas (41,5%) fueron resistentes a KETO, 2 (3,8%) a FLU, 1 (1,9%) a ITRA, 3 (5,7%) a AMB, y no hubo cepas resistentes a NIS (Fig. 1).

No hubo aislamientos de *C. no-albicans* sensibles al

Tabla I. Variación de las CIMs de 78 levaduras aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal frente a cinco drogas antifúngicas, según método de microdilución en caldo (CLSI).

Especie	Nº de cepas	Concentración inhibitoria mínima ($\mu\text{g/mL}$) a diferentes antifúngicos				
		Ketoconazol	Fluconazol	Itraconazol	Anfotericina	Nistatina
<i>C. albicans</i>	53	0,25-8	0,25-64	0,03-2	0,03-8	4-32
<i>C. glabrata</i>	11	1-8	1-64	0,25-4	0,03-4	2-16
<i>C. guilliermondii</i>	6	2-4	2-8	0,06-0,25	0,03-0,06	8-16
<i>C. parapsilosis</i>	3	2-8	1-4	0,03-0,25	0,03-0,06	4-16
<i>S. cerevisiae</i>	2	1-8	2-16	0,125-0,25	0,125-0,5	4-8

Referencias:
Los valores de la variación corresponden respectivamente a la menor y a la mayor CIM de cada droga necesaria según la especie de levadura
C. lusitaniae, *T. asahii* y *Rhodotorula* sp. – no fue mostrado la variación de la CIM por haber solamente un aislado de cada una de esas levaduras

KETO. Una cepa (4,0%) fue SDD para KETO, 3 (12,0%) para FLU, 9 (36,0%) para ITRA y 14 (56,0%) para NIS. Veinticuatro aislamientos (96,0%) fueron resistentes al KETO, 2 (8,0%) al FLU, 5 (20,0%) al ITRA, 3 (5,7%) a la AMB y no hubo resistencia a la NIS (Fig. 2).

C. glabrata fue la segunda levadura en frecuencia y la *C. no-albicans* que presentó mayor resistencia *in vitro* a los antifúngicos probados. Todas las cepas de *C. glabrata* fueron resistentes a KETO, 2 (18,1%) a FLU, 5 (45,5%) a ITRA, 2 (18,1%) a AMB y ninguna a la NIS. Dos cepas (18,1%) fueron SDD a FLU, 4 (36,4%) a ITRA, ninguno a AMB y 3 a NIS (27,3%) (Fig. 3).

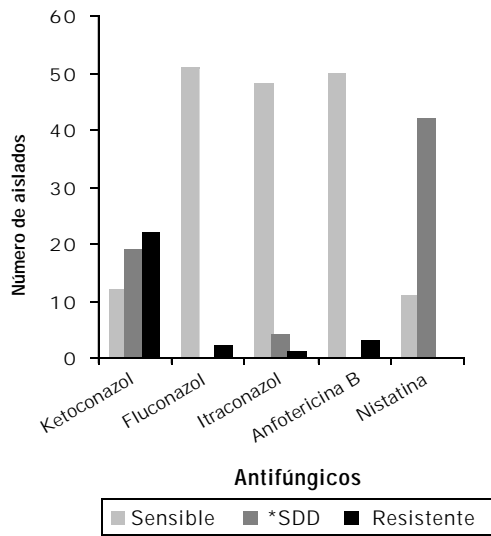


Figura 1. Número de aislamientos de *C. albicans* considerados sensibles (S), intermedarios (SDD*) y resistentes (R) frente a los cinco antifúngicos evaluados *in vitro*, según CLSI** (2002).

Referencias: *Sensible dosis-dependiente; ** Clinical Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS).

Discusión y Conclusiones

C. albicans (68%) fue la especie predominante entre las 78 cepas estudiadas, aunque el aislamiento de especies de *C. no-albicans* e inclusive de otros géneros, no fue despreciable, ratificando la importancia de la correcta identificación de las levaduras en esta patología.

Como se observa en las Figuras 1, 2 y 3, KETO podrá ser ineficiente para el tratamiento de la CVV, principalmente aquellas causadas por especies de *C. no-albicans*, que en la población estudiada mostraron elevada frecuencia de resistencia *in vitro* para este antifúngico.

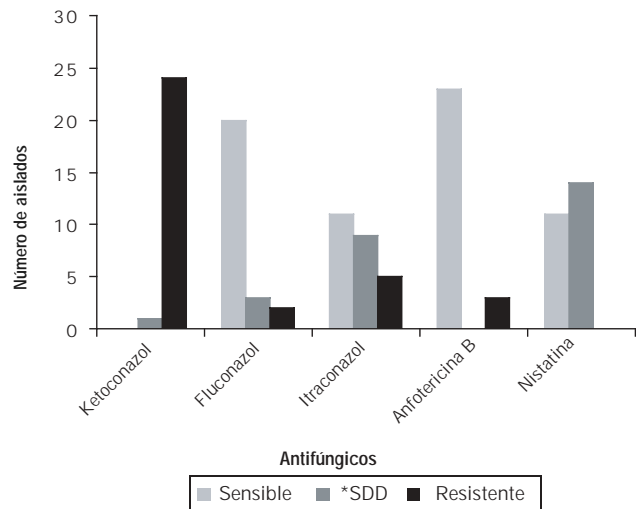


Figura 2. Número de aislamientos de *C. no-albicans* considerados sensibles (S), intermedarios (SDD*) y resistentes (R) frente a los cinco antifúngicos testados *in vitro*, según CLSI** (2002).

Referencias: *Sensible dosis-dependiente; ** Clinical Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS).

Tabla II. CIM₅₀ y CIM₉₀ de 78 levaduras aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal frente a cinco drogas antifúngicas, según método de microdilución en caldo (CLSI).

Especie	Nº de cepas	Concentración inhibitoria mínima (µg/mL) a diferentes antifúngicos				
		Ketoconazol	Fluconazol	Itraconazol	Anfotericina B	Nistatina
		CIM ₅₀ CIM ₉₀	CIM ₅₀ CIM ₉₀	CIM ₅₀ CIM ₉₀	IM ₅₀ C CIM ₉₀	CIM ₅₀ CIM ₉₀
<i>C. albicans</i>	53	0,5-4	0,5-8	0,03-0,125	0,06-0,5	16-16
<i>C. glabrata</i>	11	8-8	8-64	0,03-4	0,5-2	4-16
<i>C. guilliermondii</i>	6	2-4	4-8	0,125-0,25	0,03-0,03	8-16
<i>C. parapsilosis</i>	3	2-8	2-8	0,25-0,25	0,03-0,06	4-16
<i>S. cerevisiae</i>	2	1-8	2-16	0,125-0,25	0,125-0,5	4-8

Referencias:
 CIM = Concentración inhibitoria mínima
 CIM₅₀ y CIM₉₀ fueron definidos como la CIM capaz de inhibir 50% y 90% de crecimiento de los aislados, respectivamente.
C. lusitanae, *T. asahii* y *Rhodotorula* sp. – no fue mostrada la variación de la CIM por haber solamente un aislado de cada una de esas levaduras.

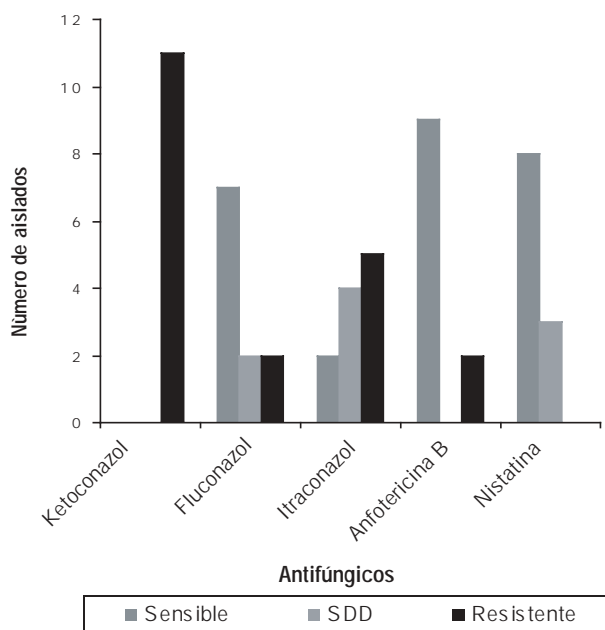


Figura 3. Número de aislamientos de *C. glabrata* considerados sensibles (S), intermedios (SDD*) y resistentes (R) frente a los cinco antifúngicos testados *in vitro*, según CLSI** (2002).

Referencias: *Sensible dosis-dependiente; ** Clinical Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS).

Richter *et al.* (19) obtuvieron resultados muy diferentes a los aquí descritos, en los cuales el 98,5% de los aislamientos de *C. albicans* y *C. no-albicans* fueron sensibles al KETO. Consolaro *et al.* (7) observaron SDD en el 40% de las cepas de *C. albicans*, pero no resistencia, lo que puede indicar que el uso indiscriminado de este antifúngico pueda estar seleccionando poblaciones de levaduras y cambiando su perfil de susceptibilidad.

Sólo el 3,8% de los aislamientos de *C. albicans* y el 8% de los de *C. glabrata* fueron resistentes a FLU, siendo estas últimas las que mostraron mayor variación de la CIM y gran diferencia entre CIM₅₀ y CIM₉₀ (Tablas I, II, Fig. 3). Así, este antifúngico mostró un buen perfil de sensibilidad *in vitro* para la CVV, principalmente cuando es causada por *C. albicans*.

En los casos de falla terapéutica, debe realizarse la prueba de susceptibilidad *in vitro* para determinar si el aislamiento puede ser SDD o resistente.

Los resultados observados en la literatura también demostraron perfiles de susceptibilidad *in vitro* a FLU semejantes a los aquí expresados, siendo para Galle *et al.* (20), el 11,7% de las cepas de *C. albicans* resistentes, para Consolaro *et al.* (7) *C. albicans* fue siempre sensible, para Ozcan *et al.* (21) sólo una cepa de *C. albicans* y otra de *C. glabrata* fueron resistentes y para Richter *et al.* (19), el 3,7% tuvieron resistencia entre *C. albicans* y *C. no-albicans*.

No obstante, Ventolini *et al.* (22) obtuvieron evidencias clínicas de que alrededor de 50% de las CVV cau-

sadas por *C. no-albicans* retornaron después del tratamiento con FLU, dato este que debe ser considerado al adoptarlo para la terapia para este grupo de levaduras.

ITRA se demostró un antifúngico más apropiado para el tratamiento de CVV causada por *C. albicans*, ya que 90,6% de las mismas se presentaron sensibles *in vitro* y sólo 1,9% resistentes (Fig. 1). Sin embargo, entre las *C. no-albicans*, sólo 44% fueron sensibles y 20% resistentes, todas ellas cepas de *C. glabrata* (Fig. 3), las que presentaron gran variación de CIM (Tabla I). Así, este antifúngico presentó un buen perfil de sensibilidad *in vitro* para las cepas de *C. albicans* aisladas de CVV. De manera semejante a estos resultados, Galle *et al.* (20) demostraron un 2% de resistencia de *C. albicans* y 23,5% de *C. no-albicans*, mientras que Ozcan *et al.* (21) no observaron levaduras resistentes a este antifúngico, al igual que en los estudios de Consolaro *et al.* (7) en relación a *C. albicans*. Sin embargo, Richter *et al.* (19) también observaron elevada resistencia entre las cepas de *C. no-albicans*, que se observó en el 74,1% de las cepas de *C. glabrata*.

Para AMB, 5,7% de las cepas de *C. albicans* y 8% de *C. no-albicans* (sólo *C. glabrata*), se presentaron resistentes (Figs. 1, 2 y 3), con gran variación en los valores de CIM y también entre CIM₅₀ y CIM₉₀ (Tablas I y II).

A pesar del buen perfil de sensibilidad, estos casos de resistencia *in vitro* son muy preocupantes, ya que AMB ha sido considerada como uno de los principales recursos terapéuticos en las infecciones fúngicas graves de otros sitios anatómicos. Galle *et al.* (20) observaron que todas las *C. albicans* fueron sensibles a AMB y un aislamiento de *C. glabrata* resistente, muy próximo a estos resultados. De la misma forma que para ITRA, Ozcan *et al.* (21) y Consolaro *et al.* (7) no observaron cepas resistentes a este antifúngico.

No hubo aislamientos resistentes a NIS, sin embargo se observó una elevada frecuencia de SDD *in vitro* (79,3% de las *C. albicans* y 56% de las *C. no-albicans*) (Figs. 1, 2 y 3). Por ello, el tratamiento de la CVV con este antifúngico preocupa, una vez que la dosis preconizada puede ser insuficiente, ocasionando el fracaso terapéutico. Ferrazza *et al.* (9) obtuvieron resultados muy semejantes a los aquí detallados en cuanto a la sensibilidad, resistencia y principalmente a la SDD a la NIS, tanto para *C. albicans* como para *C. no-albicans*. Consolaro *et al.* (7) observaron 45% de SDD en las *C. albicans* reforzando así esta tendencia ya descrita en la literatura para este antifúngico.

Sobel (1) enseñó que la mayoría de los casos de CVV (90-95%) fueron causados por cepas sensibles de *C. albicans*, indicando que el perfil de susceptibilidad *in vitro* a esta levadura parecer estar cambiando, al menos en algunas poblaciones, según evidencian los resultados aquí expuestos.

Así, algunos aislamientos de *C. albicans* presentaron resistencia *in vitro*, principalmente a KETO y entre las

especies de *C. no-albicans*, *C. glabrata* tuvo un perfil de alta resistencia, mientras que las demás fueron resistentes solamente a KETO. Estos datos ratifican la creciente necesidad de la realización de las pruebas de laboratorio para la identificación y determinar la susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos para orientar el tratamiento de la CVV.

En cuanto al probable incremento del aislamiento de especies de *C. no-albicans* en CVV como consecuencia de la eliminación de cepas de *C. albicans* más sensibles, no parece ser compatible con la realidad de las levaduras aisladas durante el período que duró este estudio.

Este trabajo fue aprobado por el COPEP- Comité de Ética e Investigación Involucrando Seres Humanos/UEM (Registro n° 007/2002, aceptado N° 013/2002, CI N° 032/02).

CORRESPONDENCIA

DRA. MÁRCIA EDILAINÉ LOPES CONSOLARO

Departamento de Análises Clínicas

Universidade Estadual de Maringá - UEM

Av. Colombo, 5790 – Campus Universitário

CEP: 87020-900 – MARINGÁ-PR-BRASIL

Tel.: (44) 3261-4795

Fax: (44) 3261-4860

E-mail: melconsolaro@uem.br; melconsolaro@yahoo.com.br

Referencias bibliográficas

- Sobel JD. Vulvovaginitis due to *Candida glabrata*: an emerging problem. *Mycoses* 1998; 41 Suppl 2: 18-22.
- Bustamante CI. Treatment of *Candida* infection: a view from the trenches. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18 (6): 490-5.
- Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, Penna C, Guaschino S, Beltrame A, *et al.* An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 110: 66-72.
- Ziarrusta GB. Vulvovaginitis candidiásica. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19: 22-4.
- Saporiti AM, Gómez SL, Galeano M, Davel G, Vovot W, Rodero L. Candidiasis vaginal: etiología y perfil de sensibilidad a agentes antifúngicos de uso clínico. *Rev Argent Microbiol* 2001; 33: 217-22.
- Álvares CA, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. *J Bras Patol Med Lab* 2007; 43 (5): 319-27.
- Consolaro MEL, Albertoni TA, Svidzinski AE, Peralta RM, Svidzinski TIE. Vulvovaginal candidiasis is associated with the production of germ tubes by *Candida albicans*. *Mycopathology* 2005; 159: 501-7.
- Dan M, Poch F, Levin D. High rate of vaginal infections caused by non-*C. albicans* *Candida* species among asymptomatic women. *Med Mycol* 2002; 40: 383-6.
- Ferraza MSH, Maluf MLF, Consolaro MEL, Shinobu CS, Svidzinski TIE, Batista MR. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. *RGBO* 2005; 27 (2): 58-63.
- Consolaro MEL, Albertoni TA, Yoshida CS, Mazucheli J, Peralta RM, Svidzinski TIE. Correlation of *Candida* species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringá, Paraná, Brazil. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 202-5.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins. Patologia estrutural e funcional. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000.
- Pichová I, Pavlickova L, Dostal J, Dolejsi E, Hruskova-Heidingsfeldova O, Weber J, *et al.* Secreted aspartic proteinases of *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* and *Candida lusitanae*: inhibition with peptidomimetic inhibitors. *Eur J Biochem* 2001; 268: 2669-77.
- Sobel JD. Candidal vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36: 153-65.
- Martins MD, Lozano-Chiu M, Rex JH. Point prevalence of oropharyngeal carriage of fluconazole-resistant *Candida* in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 843-6.
- Maenza JR, Keruly JC, Moore RD, Chaisson RE, Merz WG, Gallant JE. Risk factors for fluconazole-resistant candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996; 173: 219-25.
- Rosenberg MJ, Waugh MS, Bumhill MS. Compliance, counseling and satisfaction with oral contraceptives: a prospective evaluation. *Fam Plann Perspect* 1998; 30: 89-92.
- Sugita T, Kurosaka S, Yajitate M, Sato H, Nishikawa A. Extracellular proteinase and phospholipase activity of three genotypic strains of a human pathogenic yeast, *Candida albicans*. *Microbiol Immunol* 2002; 46: 881-3.
- Clinical Laboratory Standards Institute. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing for yeasts. Approved standard M27-A2, 2nd ed. Clinical Laboratory Standards Institute. Wayne, Pa.
- Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2155-62.
- Galle LC, Gianinni MJSM. Prevalência e susceptibilidade de leveduras vaginais. *J Bras Patol Med Lab* 2004; 40 (4): 229-36.
- Ozcan SK, Budak F, Yucesoy G, Susever S, Willke A. Prevalence, susceptibility profile and proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in Turkish women. *J Compilation* 2006; 114: 139-45.
- Ventolini G, Baggish MS, Walsh PM A. Vulvovaginal candidiasis from non-*albicans* species: retrospective study of recurrence rate after fluconazole therapy. *J Reprod Med* 2006; 51(6): 475-8.

Aceptado para su publicación el 26 de agosto de 2008