

LIGIA MAIA CARNEIRO

AVALIAÇÃO DO ESTADO SECRETOR ABH E LEWIS EM  
MULHERES NÃO GRÁVIDAS COM E SEM RISCO DE  
DESENVOLVER VULVOVAGINITE POR CANDIDA sp.

115

BELÉM - PA

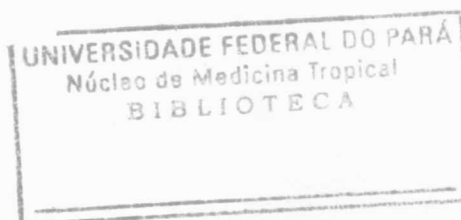
2003

LIGIA MAIA CARNEIRO

**AVALIAÇÃO DO ESTADO SECRETOR ABH E LEWIS EM  
MULHERES NÃO GRÁVIDAS COM E SEM RISCO DE  
DESENVOLVER VULVOVAGINITE POR *CANDIDA sp.***

Dissertação apresentada à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, área de concentração: Patologia das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará, para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Dra Tereza Cristina de Oliveira Corvelo



BELEM-PA

2003

618.15098115  
C 289a  
D15  
ex. 1

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ruy e Eleonor Maia Carneiro, que me deram apoio em todos os momentos da minha vida.

A Dra Tereza Cristina Corvelo, pela paciência e apoio prestados durante o período de realização deste trabalho.

A todas as mulheres que aceitaram participar deste trabalho.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ruy e Eleonor Maia Carneiro, que me deram apoio em todos os momentos da minha vida.

A Dra Tereza Cristina Corvelo, pela paciência e apoio prestados durante o período de realização deste trabalho.

A todas as mulheres que aceitaram participar deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Muito Aos meus pais, Ruy e Eleonor Maia Carneiro, que me deram apoio e mostraram-se pacientes durante a realização deste trabalho.

A Dra Tereza Cristina Corvelo, pela paciência e apoio prestados durante o período de realização deste trabalho.

Aos meus irmãos André e Denise Carneiro, que apesar da distancia, sempre estiveram presentes nos momentos difíceis e agradáveis na realização deste projeto.

As minhas queridas Julia e Juliana, que apesar de tão pequenas, sabiam como me fazer sorrir.

Ao Dr Eliel Nina de Azevedo, pela ajuda prestada durante a realização deste trabalho.

A equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Ciências Biológicas da UFPA, em especial a Ana Rodrigues, Ailton, Elisel e Cyrce, pelo apoio e amizade dispensados a mim durante a realização deste trabalho.

A Rosane Loiola pela confiança, e ajuda prestada desde o inicio deste trabalho, quando ele era apenas um trabalho de conclusão de curso.

Aos amigos Flavio Leal e Harisson Bittencourt, pela amizade e carinho dispensados a mim durante meu 1º ano de pós-graduação.

A "família" do Laboratório de Imunogenética, pelo companheirismo e amizade prestados durante a realização deste trabalho.

A Delia Aguiar, que no inicio demonstrou verdadeira aversão a minha pessoa e que com o passar do tempo se mostrou uma grande pessoa e amiga. Muito obrigado.

As amigas Renata e Hivana, pelo apoio dado na realização deste trabalho.

A Luisa Caricio Martins e Pablo Abdon, pelo carinho, apoio e amizade.

A Jocilene Guimarães, que por muitas vezes foi minha "psicóloga" e sempre esteve presente. Muito obrigado.

A Katarine Barile dos Santos, que desde a graduação se mostrou uma grande pessoa e amiga.

A amigona Danielle Fonseca Andraus pelos nossos 13 anos de amizade.

Ao meu namorado Fábio Branches Xavier, pela paciência, e amizade prestadas a mim, principalmente nos momentos finais de realização deste trabalho.

A todos, meu muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS.....	1
LISTA DE TABELAS.....	2
LISTA DE ABREVIATURAS.....	3
1.0 INTRODUÇÃO.....	4
1.1 APARELHO REPRODUTOR FEMININO.....	5
1.2 AÇÃO DOS HORMÔNIOS.....	6
1.3 HIGIENIZAÇÃO E CUIDADOS COM O VAGINISMO.....	7
1.4 VAGINITES E VAGINOSE.....	8
1.4.1 BACTERIA VAGINALIS.....	9
1.4.2 TRICOMONAS VAGINALIS.....	10
1.4.3 CANDÍDIA.....	11
1.5 DERMATOLOGIA.....	12
1.5.1 ASPECTOS DE HIGIENE.....	13
1.5.2 VULVITIS.....	14
1.5.3 ASPECTOS DE HIGIENE.....	15
1.5.4 DIAGNÓSTICO.....	16
1.6 BIOSÍNTESIS DE ANTICORPOS E GRUPO SANGÜÍNEO.....	17
1.7 ASPECTOS DE HIGIENE ANTIGENOS DE GRUPO SANGÜÍNEO.....	18
1.8 LEWIS X, Y, Z, A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z.....	19
1.9 OBTENÇÃO.....	20
2.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
2.1 LOCAL.....	22
2.2 COLETA DE AMOSTRAS.....	23
2.3 MATERIAIS.....	24
2.4 PROCEDIMENTOS.....	25
2.5 RESULTADOS.....	26
2.6 DISCUSSÃO.....	27
2.7 CONCLUSÃO.....	28
2.8 REFERÊNCIAS.....	29
2.9 ANEXOS.....	30

*“O futuro pertence aqueles que acreditam na natureza de seus sonhos”.*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>iii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>1.0 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 APARELHO REPRODUTOR FEMININO.....	1
1.2 AÇÃO DOS HORMÔNIOS.....	4
1.3 HISTOLOGIA E CITOLOGIA DO TRATO GENITAL FEMININO.....	7
1.4 VAGINITES E VAGINOSES.....	10
1.4.1 GARDNERELLA VAGINALIS.....	12
1.4.2 TRICHOMONAS VAGINALIS.....	13
1.4.3 CANDID SP.....	15
1.5 O GÊNERO CANDIDA.....	16
1.5.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS.....	16
1.5.2 VIRULÊNCIA.....	18
1.5.3 ASPECTOS IMUNOLÓGICOS.....	19
1.5.4 DIAGNÓSTICO.....	21
1.6 BIOSÍNTESE DOS ANTÍGENOS DE GRUPO SANGUÍNEO ABH E LEWIS... ..	23
1.7 ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTÍGENOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABH E LEWIS E FUNGOS DO GÊNERO CANDIDA.....	29
1.8 OBJETIVOS.....	33
<b>2.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
2.1 CASUÍSTICA.....	34
2.2 COLETA DAS AMOSTRAS.....	35
2.2.1 MUCO VAGINAL.....	35
2.2.2 SALIVA.....	35
2.2.3 SANGUE.....	36
2.3 DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS LABORATORIAIS NA IDENTIFICAÇÃO DOS SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABH .....	36
2.3.1 HEMAGLUTINAÇÃO.....	36

2.3.2 DOT-BLOT-ELISA.....	37
2.4 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA LABORATORIAL UTILIZADA NA IDENTIFICAÇÃO DA CANDIDA SP.....	38
2.4.1 MÉTODO DE GRAM.....	38
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
<b>3.0 RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS INFORMAÇÕES CLÍNICAS.....	43
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS.....	46
3.3 RELAÇÃO DA INFECÇÃO POR CANDIDA SP E OS FATORES DE RISCO ESTUDADOS.....	51
3.4 CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SECRETOR ABH E LEWIS.....	54
<b>4.0 DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>5.0 CONCLUSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>78</b>

LISTA DE FIGURAS

**FIGURA 1.** Aparelho Reprodutor Feminino..... 3

**FIGURA 2.** Nova camada de endométrio funcional (F) desenvolvendo-se a partir da camada basal compacta (B)..... 5

**FIGURA 3.** Vacuolização nas glândulas endometriais (V)..... 5

**FIGURA 4.** Enovelção progressiva das glândulas endometriais (G) estimuladas pela progesterona secretada pelo corpo lúteo..... 6

**FIGURA 5.** Fase Ovulatória. Predomínio de células intermediárias pregueadas e isoladas..... 6

**FIGURA 6.** Fase Menstrual..... 6

**FIGURA 7.** Mucosa vaginal (M) constituída por epitélio estratificado pavimentoso rico em glicogênio, uma submucosa altamente vascularizada (S), e músculo liso irregular (SM)..... 8

**FIGURA 8.** Epitélio pavimentoso estratificado (E) que reveste a ectocérvix..... 9

**FIGURA 9.** Predominância de cocobacilos, ao longo da margem celular, formando as chamadas "Clue-Cells" (células -chaves) sugestivo de *Gardnerella vaginalis*..... 13

**FIGURA 10.** *Trichomonas vaginalis*..... 14

**FIGURA 11.** Organismos fúngicos morfologicamente compatíveis com *Candida sp.*..... 15

**FIGURA 12.** Estrutura e síntese dos antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis, a partir da estrutura precursora tipo I em secretores e não-secretores..... 28

**FIGURA 13.** Freqüência de mulheres infectadas por *Candida sp* e outros microorganismos na amostra estudada, em Belém – Pará (2002)..... 43

<b>FIGURA 14.</b> Faixa etária das mulheres na amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	46
<b>FIGURA 15.</b> Frequência da atividade sexual das mulheres na amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	47
<b>FIGURA 16.</b> Número de parceiros das mulheres na amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	47
<b>FIGURA 17.</b> Uso de preservativo por mulheres com vida sexual ativa da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	48
<b>FIGURA 18.</b> Uso de método anticoncepcional por mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	48
<b>FIGURA 19.</b> Perfil do ciclo hormonal das mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	49
<b>FIGURA 20.</b> Infecções vulvovaginais anteriores nas mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	49
<b>FIGURA 21.</b> Condições de saneamento da residência das mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).....	50
<b>FIGURA 22.</b> Distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos Lewis no sangue, saliva e muco vaginal em mulheres infectadas e não-infectadas por <i>Candida sp</i> , em Belém-Pará (2002).....	59

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Presença de vulvovaginites em um grupo de mulheres da cidade de Belém-PA, 2002.....	42
TABELA 2. Mulheres infectadas por <i>Candida sp</i> e outros parasitas detectados por diagnóstico laboratorial em uma amostra de mulheres em Belém - Pará (2002).....	42
TABELA 3. Distribuição Dos sintomas clínicos em mulheres com e sem infecção vulvovaginal por <i>Candida sp</i> , em Belém – Pará (2002).....	45
TABELA 4. Apresentação dos sintomas clínicos da população de mulheres infectadas e não-infectadas por <i>Candida sp</i> , em Belém – Pará (2002).....	45
TABELA 5. Distribuição da sintomatologia em mulheres com e sem infecção vulvovaginal por <i>Candida sp</i> , em Belém – Pará (2002).....	46
TABELA 6. Apresentação das informações epidemiológicas da população de mulheres e a infecção por <i>Candida sp</i> , em Belém – Pará (2002). ....	53
TABELA 7. Distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos ABO e Lewis, e estado secretor ABH em mulheres infectadas e não-infectadas por <i>Candida sp</i> , em Belém-Pará (2002).....	57
TABELA 8. Correlação dos fenótipos Lewis na saliva e secreção muco vaginal em relação aos eritrocitários em mulheres infectadas e não-infectadas por <i>Candida sp</i> , em Belém-Pará (2002).....	58
TABELA 9. Comparação dos fenótipos Lewis concordante e discordante entre eritrócitos e as secreções salivar e vaginal em mulheres infectadas e não infectadas por <i>Candida sp</i> , em Belém-Pará (2002).....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
Células NK	Células Natural Killers
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papiloma Vírus Humano
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IL2	Interleucina 2
IL4	Interleucina 4
IL5	Interleucina 5
IL10	Interleucina 10
IL 12	Interleucina 12
INF $\gamma$	Interferon $\gamma$
LH	Hormônio Luteinizante
PCR	Reação intermediada pela Polimerase
TH1	Células T auxiliar tipo 1
TH2	Células T auxiliar tipo 2
DNA	Acido desoxirribonucléico
H	Antígeno H
HCl	Ácido clorídrico
Le	Lewis
Le <sup>a</sup>	Antígeno Lewis a
Le <sup>b</sup>	Antígeno Lewis b
Le <sup>x</sup>	Antígeno Lewis x
Le <sup>y</sup>	Antígeno Lewis y
Le <sup>d</sup>	Antígeno Lewis d
Se	Secretor

N	Normalidade
M	Molaridade
NaCl	Cloreto de Sódio
rpm	Rotação por minuto
TRIS-TRITON	Solução tampão com TRIS/HCl/NaCl, H <sub>2</sub> O e TRITON X-10
ZnCl <sub>2</sub>	Cloreto de zinco
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
μL	Microlitro

## RESUMO

Um estudo epidemiológico da prevalência da infecção por *Candida sp* em mulheres não grávidas foi realizado em uma população do Norte do Brasil (Belém-Pará, 2002). Este estudo teve como objetivo principal contribuir para esclarecer os mecanismos de infecção por *Candida sp* e sua possível associação com os antígenos de grupos sanguíneos ABO e Lewis e estado secretor de substâncias ABH. Tal estudo compreendeu um total de 165 mulheres, atendidas no Ambulatório do Hospital da Polícia Militar e Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, que procuraram essas unidades para a realização de exames ginecológicos, das quais foram coletadas amostras de sangue, saliva e muco vaginal. A presença da infecção por *Candida sp* foi feita através do exame a fresco de secreção vaginal e bacterioscopia da secreção vaginal. A identificação dos fenótipos ABH e Lewis no sangue foi determinada pelos testes de hemaglutinação direta e na saliva pelo dot-blot Elisa. Aplicou-se um questionário padrão para obtenção das informações epidemiológicas. A prevalência da infecção por *Candida sp* foi de 47,9%. Dentre os sintomas mais comumente associados à infecção por *Candida sp*, destacaram-se o prurido e corrimento. Mulheres com idade inferior a 40 anos, que não faziam uso de preservativo e que já tiveram infecções anteriores apresentaram um maior risco de infecção vulvovaginal causada por *Candida sp*. Mulheres infectadas e não infectadas por *Candida sp* tiveram distribuição similares para os fenótipos de grupos sanguíneos ABO, Lewis e estado secretor de substâncias ABH. E na comparação da expressão dos antígenos Lewis no sangue, saliva e muco vaginal, verificou-se que ambas as secreções expressavam antígenos Lewis sem qualquer estreita correlação dos fenótipos eritrocitários Lewis. Neste contexto, considera-se que a natureza da diversidade genética na interação entre hospedeiro e *Candida sp* requer estudos complementares envolvendo a identificação de diferentes cepas para determinar estas prováveis associações entre os fenótipos de grupos sanguíneos ABH e Lewis com candidíase.

## ABSTRACT

Na epidemiologic study of *Candida sp* infection prevalence in non-pregnant women was performed in a population of the north of Brazil (Belém-Pa, 2002). This paper aims to contribute to clear up the infection mechanisms of *Candida sp* and its possible association to ABO and Lewis group blood antigens and ABH substances secretory status. Such paper comprehended a total of 165 women admitted at the out-patient clinic of "Hospital da Polícia Militar" and "Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará", who came to those units to undergo gynaecologic examinations, where blood, saline and vaginal mucus samples were taken. *Candida sp* infection presence was determined through the examination of fresh vaginal secretion and bacterioscopy of vaginal secretion. The identification of ABH and Lewis phenotypes in the blood was determined through direct hemagglutination tests and, in the saline, by Elisa Dot-blot. It was performed a standard form for the obtaining of epidemiologic information. *Candida sp* prevalence was 47.9%. Among the most common signals and symptoms associated to *Candida sp* infections are pruritus and gleet. Women under 40 who did not use condoms and who have already had previous infections presented a higher risk of vulvo-vaginal infection caused by *Candida sp*. Infected and non-infected women with *Candida sp* had similar distribution to the phenotypes of ABO, Lewis blood groups and ABH substances secretory status. And, comparing the expressions of Lewis antigens in the blood, saline and vaginal mucus, it was verified that both secretions expressed Lewis antigens without any close relationship to erythrocytic Lewis phenotypes. In such context, it is considered that the nature of genetics diversity in the interaction between *Candida sp* and host requires more studies involving the identification of different types to determine their probable associations among ABH and Lewis blood groups phenotypes with candidiasis.

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1. APARELHO REPRODUTOR FEMININO

O aparelho reprodutor feminino é formado por dois ovários, duas tubas uterinas ou de Falópio, o útero, a vagina e a genitália externa ou vulva. No período compreendido entre a menarca e a menopausa, o aparelho genital feminino sofre modificações cíclicas em sua constituição. Durante o período de pós-menopausa, este sofre uma pequena involução (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O ovário é um pequeno órgão oval, que suporta os oócitos ou células germinativas (MACKEE, 1997). Eles medem cerca de 4 cm de comprimento, e 2,5 a 3 cm de largura e está dividido em córtex e medula. O córtex consiste em uma camada de células fusiformes. A medula está composta por tecido mesenquimal. Na puberdade, observam-se folículos e óvulos em estágios variados de maturação no interior do córtex. a cada ciclo menstrual, o folículo desenvolve-se a caminho da ovulação (ROBBINS *et al*, 1994).

A tuba de Falópio é um tubo que colhe o ovócito após a ovulação e o dirige para o útero. Uma de suas extremidades abre-se na cavidade peritoneal, próximo ao ovário, e a outra atravessa a parede do útero e abre-se no interior desse órgão (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995). O seu revestimento é composto por três tipos celulares: células colunares ciliadas, células colunares não-ciliadas, colunares e secretórias (ROBBINS *et al*, 1994).

O útero tem forma de uma pêra e apresenta três regiões anatômicas e funcionais distintas: o colo, o segmento uterino inferior e o corpo. O colo é dividido em porção vaginal e endocérvice. Ele está coberto por um epitélio escamoso estratificado não-queratinizado. A

endocérvice normalmente não fica exposta e está revestida por epitélio colunar secretor de muco (ROBBINS *et al*, 1994).

Desde a vulva até o útero se estende a vagina. Na parte superior da vagina, começa a parte inferior do colo do útero, denominada de ectocérvice. Ao espaço existente entre a parede vaginal superior e o colo do útero, denomina-se fundo do saco vaginal. A mucosa vaginal e o ectocérvice estão cobertos por um epitélio pavimentoso estratificado que não possui glândulas (MACKEE, 1997). Apresenta três camadas: mucosa, muscular e adventícia. O muco encontrado na luz da vagina é proveniente das glândulas da cérvice uterina (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

A genitália externa ou vulva é formada pelo vestíbulo, clitóris, pequenos lábios e grandes lábios. O vestíbulo corresponde à abertura da vagina no exterior. O clitóris representa um pênis rudimentar e incompleto. Os pequenos lábios são dobras da pele, contendo grande quantidade de tecido adiposo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O funcionamento do aparelho reprodutor feminino depende dos sistemas endócrino e nervoso (Figura 1) (STEVENS & LOWE, 1995)

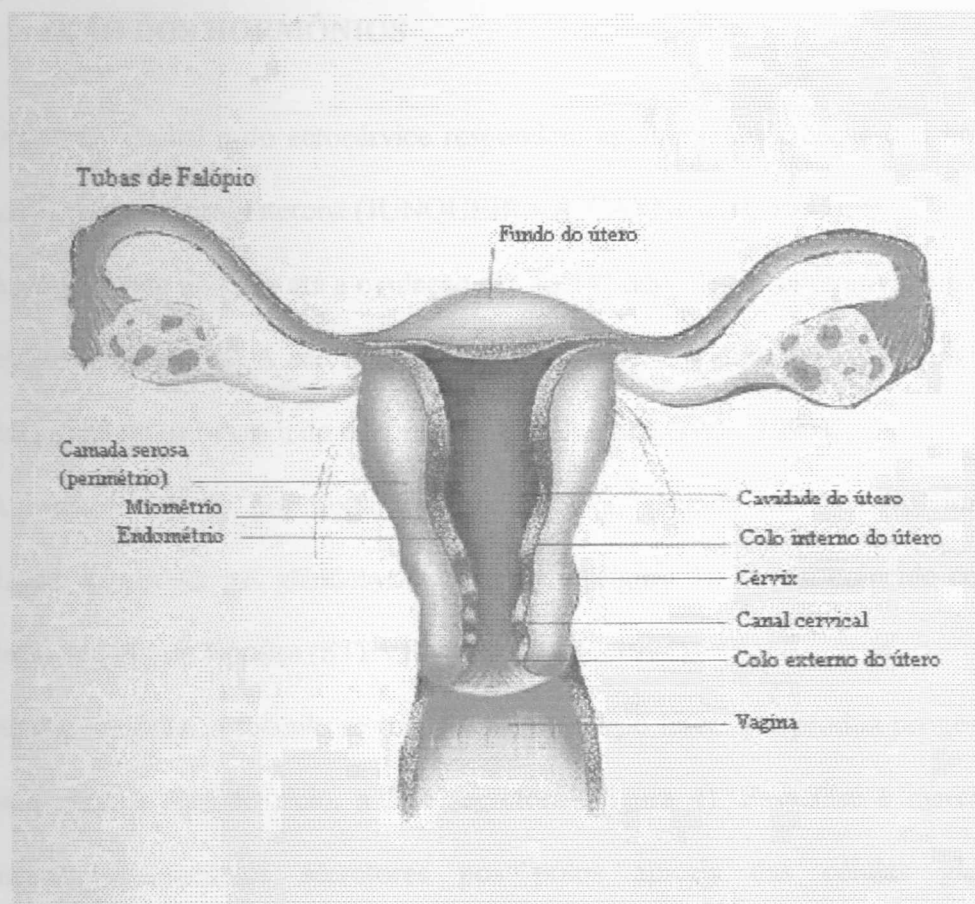


Figura 1. Aparelho Reprodutor Feminino.

Fonte: <http://www.bionline.net/lab.apem.htm/> 19/05/2001

## 1.2. AÇÃO DOS HORMÔNIOS

O epitélio vaginal e do ectocérvice respondem às alterações cíclicas dos hormônios ovarianos estrógeno e progesterona (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

A primeira fase do ciclo até a ovulação (1° ao 14° dia), fase proliferativa, é governada pelo estrógeno (Figura 2). A secreção de estrógenos estimula uma atividade mitótica das glândulas endometriais basais e do estroma (STEVENS & LOWE, 1995).

A ovulação ocorre por volta 14° ao 16° dia, seguida do desenvolvimento da vacuolização subnuclear nas glândulas endometriais (Figura 3), a qual coincide com picos de secreção de LH pela hipófise (STEVENS & LOWE, 1995).

Após a ovulação, o folículo se transforma em corpo lúteo que produz progesterona e governa a segunda fase do ciclo, a fase secretora (Figura 4). Essa fase é marcada pelo aparecimento de vacúolos secretores nos pólos apicais das células glandulares endometriais. A secreção glandular ocorre em resposta à progesterona secretada pelo corpo lúteo. Cessando a função do corpo lúteo ocorre o sangramento menstrual (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

O tecido endometrial muda sua morfologia com os estímulos hormonais. Os estrogênios induzem proliferação e provocam crescimento do epitélio e do estroma, e ainda o crescimento das glândulas e das artérias (fase proliferativa pós-menstrual e pré-ovulatória). Nessa fase (ovulação) predominam células intermediárias pregueadas e isoladas (Figura 5), com diminuição do muco, hemácias e leucócitos (MACKEE, 1997).

Logo após a ovulação (fase secretória do endométrio) com o aparecimento da progesterona, o endométrio se engrossa, há edema do estroma, se pregueiam as glândulas. No final desta etapa as glândulas se encontram dilatadas contendo secreções espessas.

Ocorre infiltração leucocitária do estroma, e predomínio das células intermediárias pregueadas e agrupadas (com a queda dos níveis de estrogênio e progesterona, e lactobacilos com citólise). Ao ocorrer a menstruação (Figura 6), se perde todo o epitélio e parte do estroma com perda de sangue (MACKEE, 1997).

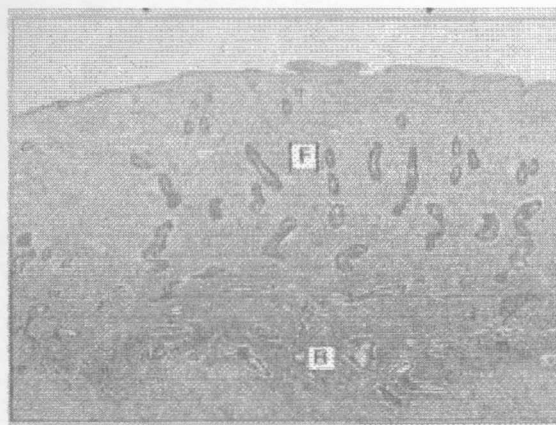


Figura 2. Nova camada de endométrio funcional (F) desenvolvendo-se a partir da camada basal compacta (B).

Fonte: STEVENS & LOWE, 1995

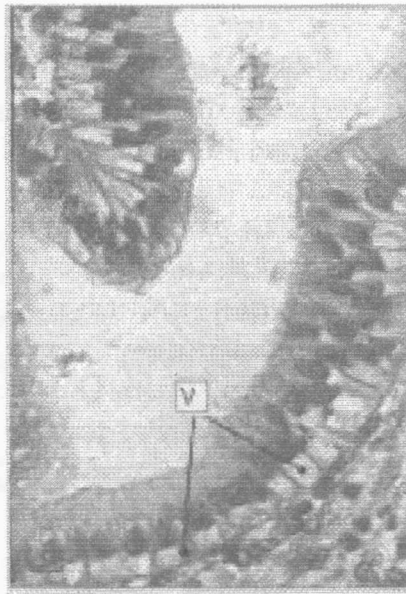


Figura 3. Vacuolização nas glândulas endometriais (V).

Fonte: STEVENS & LOWE, 1995.

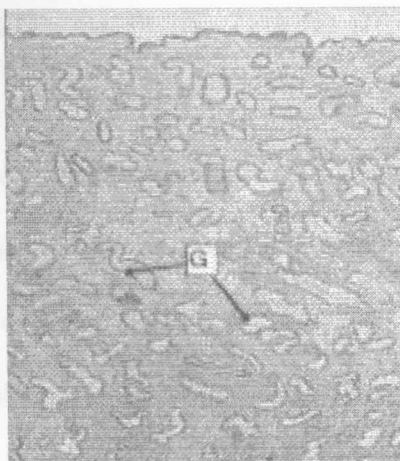


Figura 4. Enovelção progressiva das glândulas endometriais (G) estimuladas pela progesterona secretada pelo corpo lúteo.

Fonte: STEVENS & LOWE, 1995.

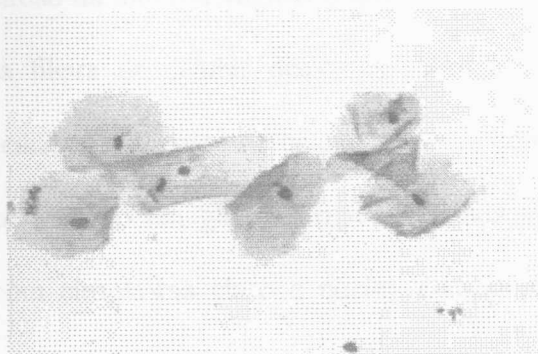


Figura 5. Fase Ovulatória. Predomínio de células intermediárias pregueadas e isoladas.

Fonte: MACKEE, 1997

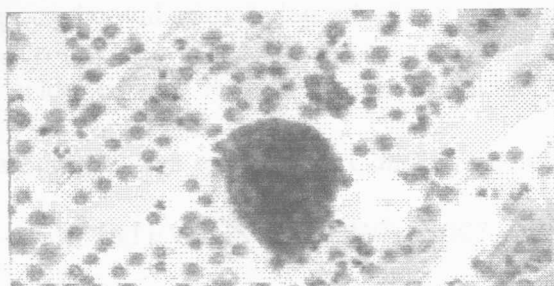


Figura 6. Fase Menstrual

Fonte: MACKEE, 1997

### 1.3. HISTOLOGIA E CITOLOGIA DO TRATO GENITAL FEMININO

A vulva é revestida por epitélio pavimentoso estratificado corneificado semelhante ao que reveste a pele. Os segmentos distais dos ductos de glândulas vestibulares, assim como a vagina e o colo do útero são revestidos por epitélio semelhante não corneificado. Este último, responde à estímulos hormonais. O estrógeno promove a proliferação do epitélio, e o acúmulo de glicogênio em suas células (DE LUCA, 1981; VAL & GUTERMBERG FILHO, 2001).

O epitélio pavimentoso da mucosa vaginal (Figura 7) é constituído por uma camada basal, composta por uma fileira de células dispostas sobre a membrana basal, camada parabasal, camada intermediária, composta de células maiores com maior diferenciação do citoplasma que é vacuolado e rico em glicogênio, e a camada superficial, constituída de células grandes, planas com citoplasma claro e núcleo central picnótico e pequeno (DE LUCA, 1981).

A estrutura da vagina varia com a idade e atividade hormonal. O conteúdo de glicogênio é máximo na época da ovulação. A degradação do glicogênio por lactobacilos na cavidade vaginal produz ácido láctico, resultando em pH ácido de 4.5. Isto dificulta a invasão da maioria dos patógenos, com exceção da *Candida* que causa inflamação vaginal, e prolifera em ambiente ácido (STEVENS & LOWE, 1995; VAL & GUTERMBERG FILHO, 2001).

O epitélio pavimentoso estratificado do ectocervix (Figura 8) e vagina, em seu máximo estado de maturação está formado por várias camadas de células que mostram variações morfológicas desde a camada mais profunda que assenta sobre a camada basal,

que separa o epitélio do estroma, até as camadas superficiais. A proliferação e maturação do epitélio depende do predomínio entre os hormônios estrogênio e progesterona (STEVENS & LOWE, 1995).

A mucosa do colo uterino, endométrio, é constituída por um estroma coberto por um epitélio cilíndrico simples, onde predominam células muco secretantes sobre as ciliadas.

Os distintos tipos de células podem aparecer em diferentes proporções dependendo do balanço hormonal.

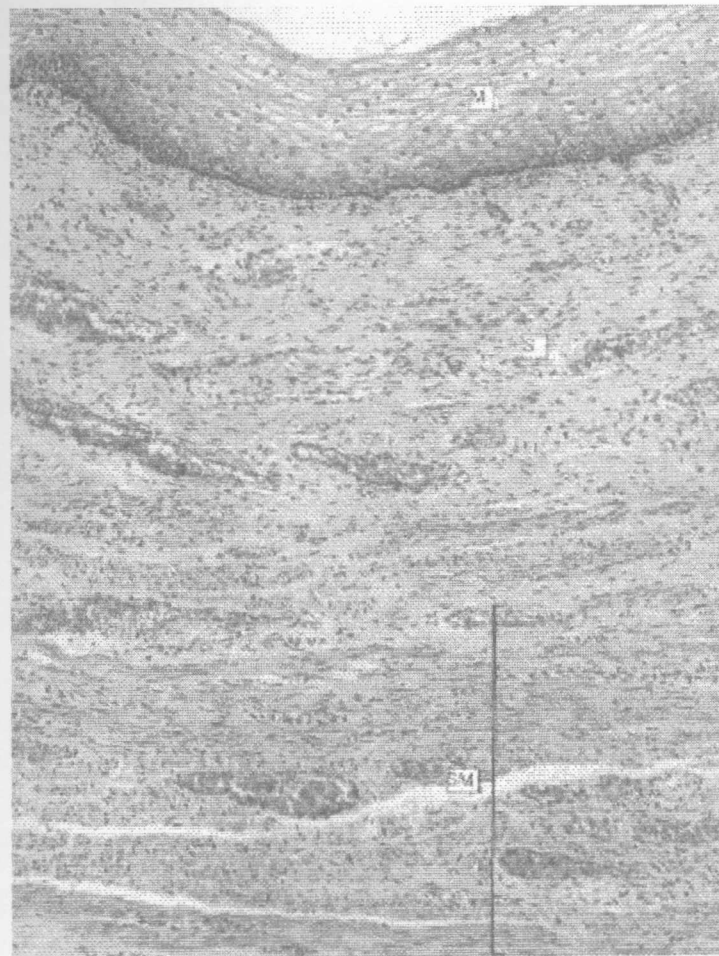


Figura 7. Mucosa vaginal (M) constituída por epitélio estratificado pavimentoso rico em glicogênio, uma submucosa altamente vascularizado (S), e músculo liso irregular (SM).

Fonte: STEVENS & LOWE, 1995.

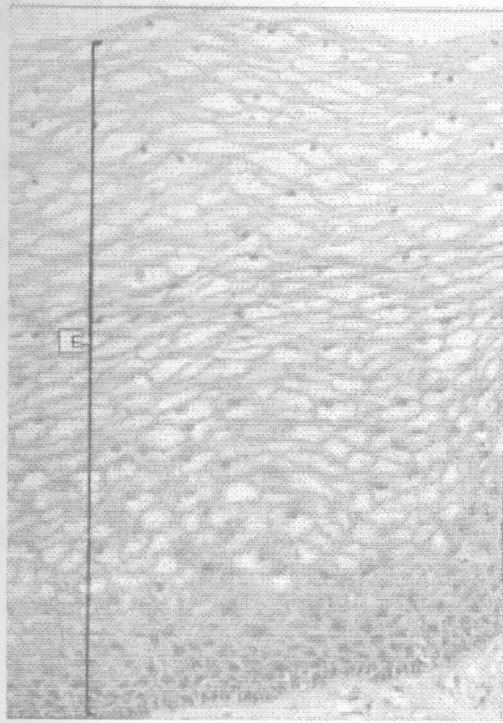


Figura 8. Epitélio pavimentoso estratificado (E) que reveste a ectocervix.

Fonte: STEVENS & LOWE 1995

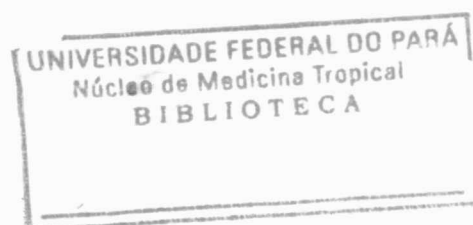
#### 1.4. VAGINITES E VAGINOSES

A flora vaginal normal varia de indivíduo para indivíduo, mas o bacilo de Doderlein é o microorganismo que predomina. Este pertence ao grupo de lactobacilos: é um bastonete Gram-positivo, utiliza o glicogênio das células do epitélio pavimentoso e vive melhor em pH vaginal ácido de 4,5. A sua morfologia pode variar, pois a acidez do meio pode modificar a sua forma de bastonete em outra mais curta, semelhante a coco, ou mesmo formas filamentosas. Alguns autores admitem ser este bacilo responsável pela citólise observada no esfregaço vaginal (DE LUCA, 1981; VAL & GUTERMBERG FILHO, 2001).

Os bacilos de Doderlein são responsáveis pela proteção do ambiente intravaginal contra patógenos. No entanto há trabalhos que afirmam que infecções por *Candida* estão associados com esses microorganismos (NASCIMENTO, *et al*, 1999).

Algumas cepas de *Lactobacillus* produzem peróxido de hidrogênio e todas as cepas produzem ácido láctico. A interação positiva entre esses componentes e organismos associados à vaginose bacteriana pode contribuir para a patogênese destas infecções (PYBUS & ONDERDONNK, 1999).

O conteúdo vulvar ou vulvovaginal sob forma de corrimento, exudatos ou secreções anormais serão sempre motivo de investigação microbiológica. O aspecto macroscópico não satisfaz, pois raramente correlaciona-se com o agente etiológico. Entretanto, interessa à prática recordar a aparência sanguínea purulenta, amíude de odor fétido, dos fluxos provocados por corpos estranhos ou tumores necrosados. Nas infecções tanto agudas como crônicas, os exudatos variam do branco-mucoso ao amarelo esverdeado (LACAZ, 1991).



Um extensivo número de organismos patogênicos e não patogênicos podem ser observados na microflora vaginal. Uma grande variedade de microorganismos pode infectar o aparelho genital feminino. Essas infecções podem causar desconforto significativo nas mulheres (ROBBINS *et al*, 1994).

Vários processos infecciosos na vagina são resultados de um desequilíbrio desta flora, semelhante aos que ocorrem na gravidez. As infecções mais comumente encontradas são aquelas causadas por *Candida sp*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*. O Papiloma Vírus Humano (HPV) também é uma infecção comum. A freqüência desses patógenos irá depender da população estudada e do método empregado (MURTA *et al*, 2000).

A presença de corrimento é provavelmente a mais freqüente queixa de pacientes do sexo feminino. É difícil estabelecer o mecanismo patológico da microbiota vaginal, já que é possível cultivar uma grande quantidade de microorganismos patogênicos (LUCENA & BARBOSA, 1999).

A baixa imunidade do organismo, causada por stress e deficiência em vitaminas, entre outros fatores, e o uso de calças muito justas ou roupas íntimas feita de material sintético favorece também o aparecimento de corrimento vaginal. Infecções no trato genital feminino podem aumentar em várias vezes a possibilidade das mulheres se contaminarem com o vírus HIV, o causador da AIDS, como aquelas responsáveis por lesões ulcerativas, tais como herpes e sífilis (LINHARES, 1999).

#### 1.4.1. GARDINERELLA VAGINALIS

Vaginose bacteriana é uma síndrome onde a população de lactobacilos, que são dominantes na vagina, é substituída por uma mistura de microorganismos, os quais incluem principalmente a *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* e em alguns casos o *Mobiluncus sp*, uma bactéria curva, Gram-positiva anaeróbia (PYBUS & ONDERDONK, 1999).

Entre as bactérias mais encontradas, associadas à vaginose temos a *Gardnerella vaginalis*. São bactérias de curto tamanho. São consideradas como anaeróbios. Incide preferencialmente em mulheres em plena atividade sexual, sendo rara a infecção na pré-adolescência e pós-menopausa. O quadro clínico é de corrimento vaginal fétido, amarelo ou amarelo esverdeado. Na forma infecciosa simples não há prurido, exceto quando há associação com outros patógenos. Em esfregaços corados pelo Gram (Figura 9), observa-se presença de cocobacilos pleomórficos sobre as células epiteliais de descamação, também chamadas de células chaves (KONEMAN *et al*, 1993).

A patogenicidade das vaginoses bacterianas não é completamente entendida (PYBUS & ONDERDONK, 1999).

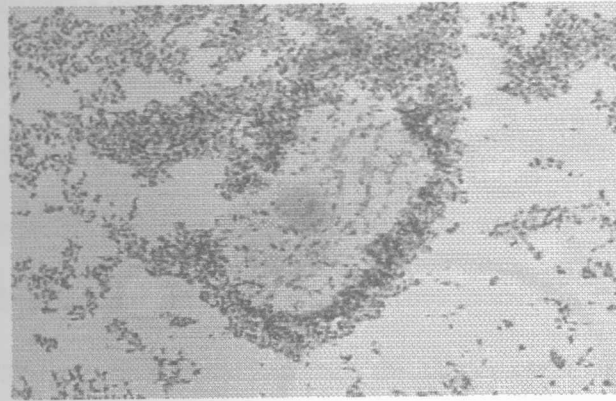


Figura 9. Predominância de cocobacilos, ao longo da margem celular, formando as chamadas "Clue-Cells" (células -chaves) sugestivo de *Gardnerella vaginalis*.

Fonte: KURMAN & SOLOMON, 1997

#### 1.4.2. TRICHOMONAS VAGINALIS

O *Trichomonas vaginalis* é uma das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns. Ele afeta milhares de pessoas e pode aumentar o risco de transmissão do HIV (HOBBS *et al*, 1999; BOWDEN & GARNETT, 2000).

Infecções vaginais agudas ou crônicas são geralmente causadas pelo *Trichomonas vaginalis* (Figura 10), que pode ser facilmente identificado em preparações úmidas de corrimento vaginal (ROBBINS *et al*, 1994).

A trichomoníase é uma protozoze vaginal rara na infância e pós-menopausa. Determina leucorréia com fluxo abundante, purulenta ou amarelada, fétida e pruriginosa. No exame à fresco apresenta-se como estrutura arredondada, ovalada ou piriforme caracteristicamente móvel. Usualmente esse agente não sobrevive fora do sistema urogenital (NEVES, 1995). Classicamente, a detecção da motilidade do parasita depende do

exame microscópico direto de secreção vaginal, porém técnicas de PCR tem sido desenvolvidas para a detecção do microorganismo (VAN DER SCHEE *et al*, 2001).

Quando a inflamação está bem desenvolvida, a mucosa vaginal apresenta uma coloração característica vermelho-vivo. Histologicamente existe reação inflamatória supurativa, geralmente superficial e afeta apenas a mucosa vaginal (ROBBINS *et al*, 1994).

A trichomoníase tem sido recentemente associada com complicações graves, como o aumento do risco de desenvolvimento de câncer cervical e com a alta probabilidade de infecção por HIV (FIORI, *et al*, 1999).

A interação entre o parasita e a célula-alvo tem sido estudada principalmente em sistemas "in vitro", baseado na cultura de tecidos. Esses sistemas têm permitido a caracterização de processos citopáticos. No entanto, esses sistemas não demonstram claramente o mecanismo de citopatogenicidade do parasita e os efeitos responsáveis pela lise e morte das células epiteliais (FIORI, *et al*, 1999).

O *Trichomonas vaginalis* freqüentemente prolifera quando há diminuição da acidez vaginal. É a causa comum de corrimento em mulheres na idade reprodutiva (NEVES, *et al*, 1995)

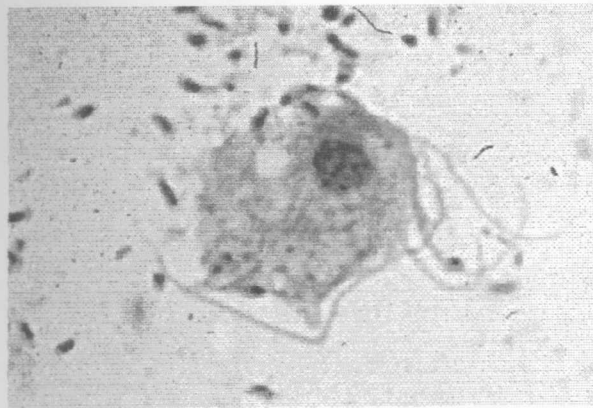


Figura 10. *Trichomonas vaginalis*

Fonte: <http://medlib.med.utah.edu/parasitology/tvagim.html/> 08/04/2002

### 1.4.3. CANDIDA SP

A *Candida* é freqüentemente encontrada como parte da flora normal do corpo e pode ser isolada de superfícies mucosas sadias da cavidade oral, vagina, trato gastrointestinal e região retal (MURRAY, 1992).

A vaginite causada por *Cândida* (Figura 11) é a mais freqüente infecção na mucosa vaginal, e afeta um significado número de mulheres na idade reprodutiva (KENT, 1991).

Podemos encontrar associação entre *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* ou *Trichomonas vaginalis* e *Candida sp*; porém estudos ainda não demonstraram associação entre a *Gardnerella vaginalis* e *Candida sp* (LUCENA & BARBOSA, 1999)

Foi descrito também uma associação do *Candida* com infecção por HPV, indicando que provavelmente a infecção por *Candida* pode ativar a infecção latente pelo HPV. Acredita-se que a infecção viral mais freqüentemente transmitida por via sexual seja aquela provocada pelo HPV, originando também uma das mais prevalentes entre todas as DST (MURTA *et al*, 2000).

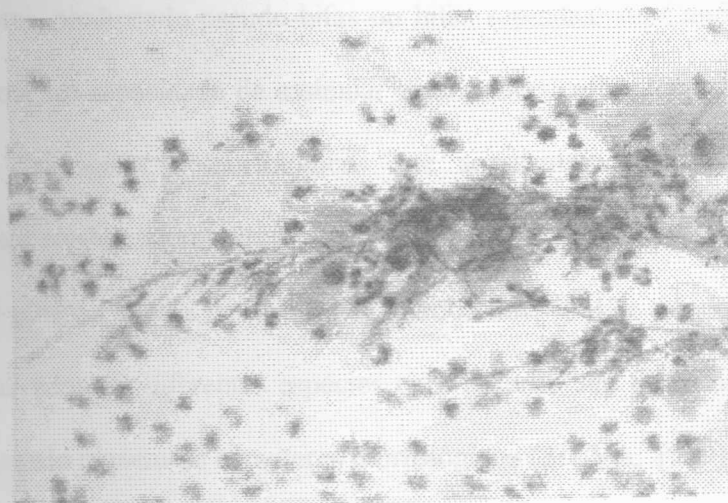


Figura 11. Organismos fúngicos morfológicamente compatíveis com *Candida sp*.  
Fonte: KURMAN E SOLOMON, 1997.

## 1.5. O GENERO CANDIDA

### 1.5.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS

A candidíase, também denominada de candidose, é a infecção causada por fungos do gênero *Candida*. Candidas são as causas mais comuns de doença fúngica humana. O agente mais comum é a *Candida albicans*, que pode infectar hospedeiros normais assim como alterados. Outras espécies tem sido identificadas em infecções: *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*. Acredita-se que a maior parte das infecções causadas seja de origem endógena (TRABULSI, 1991).

Os microorganismos do gênero *Candida* são eucariotas, pertencentes ao Reino Fungi, divisão Deuteromicota, subdivisão Deuteromicotina, classe Deuteromicetes, subclasse Blastomicétida, ordem Criptococales, gênero *Candida*, segundo AINSWORTH, 1971.

Morfologicamente as leveduras do gênero *Candida* se multiplicam pela formação de blastosporos, produzindo pseudo-hifas ou hifas septadas. As Candidas são identificadas de acordo com sua capacidade de assimilar e fermentar carboidratos, assim como por certas respostas fisiológicas e morfológicas que apresentam quando estes microorganismos crescem sob condições nutricionais controladas (MURRAY, 1992).

O gênero *Candida* de leveduras engloba uma grande quantidade de organismos que são classificados em diferentes espécies com base no seu perfil bioquímico e fisiológico e em um limitado número de caracteres morfológicos (SILVA, 1999).

A *Candida* é um microorganismo saprofítico, oportunista, que ataca sob condições favoráveis, como um decréscimo do pH vaginal ou alteração no mecanismo de defesa. A

microflora normal bacteriana na superfície mucocutânea da vagina exerce influência inibidora sobre o crescimento de *Candida* e, portanto sua supressão e as mudanças no pH podem permitir a proliferação do fungo (REED, 1992).

Nos últimos anos, vem aumentando o número de infecções invasivas causadas por espécies de *Candida*. Acredita-se que a maioria dos casos de candidemia sejam adquiridas por via endógena, através do trato gastrointestinal, sistema que apresenta colonização por *Candida spp* em até 70% da microbiota normal. Entretanto, infecções por esse gênero de leveduras podem ser adquiridas por via exógena, através do contato com indivíduos colonizados (COLOMBO, 2000).

O gênero *Candida* abrange espécies heterogêneas de leveduras. As espécies mais frequentemente associadas a doenças humanas são *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis*. Muitas outras espécies tem sido isoladas de materias clínicos, embora menos comuns, como *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr* e *Candida lusitaniae*. Com base em semelhanças de DNA, várias espécies importantes foram reduzidas a sinônimos, assim *Candida stellatoidea*, *Candida langeroni* e *Candida claussenii* são consideradas sinônimas de *Candida albicans* (WANKE & LAZÉRA, 2002).

A presença de leveduras na vagina tem sido extensivamente estudada e a freqüência desta afecção em mulheres aparentemente normais é menor do que 30%. A concentração e a freqüência de leveduras no conduto vaginal são maiores em mulheres que usam roupas apertadas, mulheres com sintomas de prurido e corrimento vaginal tem um número elevado de leveduras. Encontra-se maior freqüência de leveduras em mulheres grávidas, sugerindo que fatores fisiológicos relacionados com a gravidez predispõem o epitélio vaginal a colonização fúngica (FERREIRA & ÁVILA, 1996).

O aumento das concentrações de progesterona e estradiol, acidez do pH vaginal, aumento da concentração de glicogênio nas células do epitélio vaginal, são condições propícias ao desenvolvimento de *Candida*. A *Candida albicans* é a levedura mais freqüente em grupos de mulheres sem sintomatologia aparente, assim como nas que apresentam vaginite (FERREIRA & ÁVILA, 1996).

Segundo NAZÁRIO *et al* (1998), cerca de 80 a 85% dos casos de candidíase são atribuídas à espécie *Candida albicans*, enquanto que as outras espécies, como *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*, estão envolvidas em 15 a 20% dos casos.

### 1.5.2. VIRULÊNCIA

A aderência da *Candida* na superfície das mucosas é considerada um dos maiores fatores de virulência para a doença.

A *Candida* apresenta numerosas moléculas em sua superfície que intermediam sua aderência ao tecido hospedeiro, incluindo uma lectina que se liga aos açúcares nas células epiteliais, e uma proteína contendo manose que se liga às moléculas semelhantes a lectina de células epiteliais. Outros fatores associados à virulência incluem uma aspartil proteinase secretada, que pode estar envolvida na invasão tecidual através da degradação das proteínas da matriz extracelular, e uma adenosina secretada que bloqueia a produção de radicais de oxigênio dos neutrófilos (ROBBINS *et al*, 1996).

A *Candida* cresce melhor em superfícies quentes e úmidas; desta forma, causa vaginite, particularmente durante a gravidez (SOBEL, 1990; SPINILLO *et al*, 1992; REED & EYLER, 1993).

Estudos prévios tenta demonstrar que há uma certa relação entre determinantes de grupos sanguíneos e vulvovaginites causadas por *Candida* (SOBEL, 1992).

O conhecimento da ecologia de leveduras revela que diversas espécies de *Cândida* fazem parte da microbiota de indivíduos sadios e que estão amplamente distribuídas no meio ambiente, na fauna e flora, solo e água (FERREIRA & ÁVILA, 1996).

O relato das infecções por *Candida* tiveram um aumento nos últimos anos. Muitas mulheres na idade reprodutiva já apresentaram pelo menos uma vez os sintomas da candidíase, infreqüentes, crônicas ou recorrentes. A candidíase afeta principalmente pacientes com predisposição. O uso de drogas imunossupressoras, antibióticos, casos de diabetes, gravidez e AIDS, podem ser considerados fatores pré-disponentes para uma vaginite recorrente (FERREIRA & ÁVILA, 1996). Outros fatores que são levados em consideração são; idade, localização geográfica e condições sócio-econômicas. É encontrada comumente em mulheres jovens que tomam anticoncepcionais orais. Porém há mulheres que não tem definido claramente fatores de risco para esta infecção (SOBEL, 1992).

### 1.5.3. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS

A imunidade mediada por célula (linfócitos T) e a imunidade celular não específica (macrófagos, células NK, e neutrófilos) são importantes para fornecer uma defesa contra infecções fúngicas. A importância do mecanismo de defesa celular na proteção contra este tipo de infecção é demonstrada através de observações clínicas, onde se observa que este tipo de infecção ocorre principalmente em pacientes que apresentam defeito na imunidade celular (CASADEVALL, 1995).

Pacientes imunodeprimidos, particularmente aqueles com infecção por HIV e aqueles que utilizam drogas imunossupressoras, tem uma alta incidência de infecções fúngicas, principalmente do gênero *Candida*, sugerindo que a imunidade envolvendo células CD4<sup>+</sup> é eficaz no controle desta infecção (PUCETTI, *et al* 1995; CORRIGAN *et al*, 1998). Adicionalmente, observações clínicas em modelos animais demonstram que a imunidade mediada por célula é um importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra a infecção por *Candida albicans* (FIDEL & SOBEL, 1994).

O potencial dos granulócitos e macrófagos, os quais ativam tipos celulares, é limitado, sendo necessário a ativação de linfócitos para fornecer a produção de citocinas (IL-4 e IL-10) que são utilizadas no combate ao antígeno. Essas citocinas inibem a ativação de IL-2 e INF- $\gamma$ , produzidas por células TH1 (PUCETTI, *et al* 1995).

Um prejuízo aparente da resposta TH1 é freqüentemente observado em pacientes com candidíase, incluindo a supressão de uma resposta tardia, aumentando níveis de anticorpos IgE, IgA e IgG, e produção de eosinófilos. O modelo TH1 e TH2 de imunidade adquirida, sugere uma baixa regulação da função TH1 e evita a destruição intra e extra celular por fagócitos (PUCETTI, *et al* 1995).

Fatores associados com estágios do ciclo menstrual podem modular o local da resposta imune. Alterações endócrinas durante o ciclo reprodutor regula os níveis de IgA (componente secretor) e IgG no útero e secreção cervicovaginal ( CORRIGAN *et al*, 1998).

O estradiol e a progesterona demonstram interagir na regulação da apresentação do antígeno no trato reprodutor feminino. É possível que a função da célula T seja influenciada por esses hormônios (CORRIGAN *et al*, 1998).

Pacientes com vulvovaginite recorrente tem a maioria das citocinas do tipo TH1 e TH2 no fluido vaginal inalteradas, mas em pacientes com episódios de remissão ou episódios de vaginite sintomática, observa-se uma redução de IL-12(tipo TH1) e IL-5(tipo TH2). A diminuição ou ausência da IL-12 pode ter importância clínica na vaginite recorrente. Essa citocina regula a resposta TH1 e inibe a resposta TH2, influencia a produção de IFN- $\gamma$  e ativa células assassinas-NK (FIDEL *et al*, 1997).

A dificuldade em estabelecer o papel dos anticorpos na infecção fúngica sugere que o fungo tenha uma resistência ou use um mecanismo de escape para neutralizar a ação dos anticorpos. Muitos fungos, como a *Candida albicans* produzem proteases que destroem imunoglobulinas. Variações antigênicas podem facilitar o mecanismo de escape. A composição antigênica da *Candida albicans* difere com a temperatura, e os estágios de hifa e levedura são antigenicamente diferentes (CASADEVALL, 1995).

#### 1.5.4. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção por *Candida* requer análise criteriosa.

Clinicamente, a vulvovaginite se assemelha ao “sapinho”(candidíase da cavidade oral), porém é caracterizada por corrimentos inodores, bastante pruriginosos. Frequentemente há queixa de dissúria. Macroscopicamente observam-se fissuras na mucosa vaginal e na vulva, resultantes do prurido intenso.

O diagnóstico laboratorial baseia-se no achado do microorganismo em preparações úmidas de material das lesões, dependendo da demonstração de leveduras brotantes, pseudo-hifas ou hifas (FERREIRA & ÁVILA, 1996).

No diagnóstico micológico das secreções vaginais, são empregadas técnicas como exame direto, esfregaço corado pelo método de Gram, e isolamento do agente em ágar-Sabouraud (NASCIMENTO *et al*, 1999).

Técnicas de PCR também vem sendo utilizadas com freqüência para identificação principalmente de linhagens de *Candida sp*, as quais não podem ser isoladas pelos métodos convencionais. A extração de DNA é feita através de leveduras isoladas em Ágar-Sabouraud (ANDRADE *et al*, 2000).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

## 1.6. BIOSÍNTESE DOS ANTÍGENOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABH E

### LEWIS

Os antígenos ABH e Lewis são oligossacarídeos, e estão relacionados bioquimicamente, pois são produzidos a partir das mesmas substâncias precursoras. A biossíntese de cadeias oligossacarídicas implica a participação de várias glicosiltransferases, produtos dos genes do sistema ABO, Hh, Sese e Lele, que adicionam moléculas de açúcar específicas em substâncias precursoras (LE PENDU, 1989). Estes antígenos são expressos nos eritrócitos, tecidos e fluidos corporais como o muco vaginal. A via biosintética ocorre de maneira diferenciada nas hemácias e em células de outros tecidos, devido a natureza bioquímica e genética (ORIOLE *et al*, 1986)

Quatro tipos principais dos antígenos ABH tem sido encontrados nas secreções e/ou eritrócitos, classificados de acordo com a estrutura terminal da cadeia (CLAUSEN, 1987):

Tipo 1: Gal  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3 Glc NAc  $\beta$ 1 $\rightarrow$ R

Tipo 2: Gal  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4 Glc NAc  $\beta$ 1 $\rightarrow$ R

Tipo 3: Gal  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3 Gal NAc  $\alpha$ 1 $\rightarrow$ R

Tipo 4: Gal  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3 Gal NAc  $\beta$ 1 $\rightarrow$ R

Essas cadeias precursoras tem capacidade de se transformar em antígeno H pela adição de uma L-fucose à ligação  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 2) da galactose terminal, sendo esta adição papel das  $\alpha$ -2-fucosiltransferases. É observada uma frequência maior de cadeias do tipo 1 e do tipo 2 nas secreções e/ou eritrócitos.

As mudanças na estrutura das cadeias precursoras dependerão da constituição genética de cada indivíduo em relação aos genes dos loci polimórfico ABO, Hh e Se/se e Le/le (WATKINS & GREENWELL, 1987).

Os genes Se e H dirigem a produção de distintas  $\alpha 2$ -fucosiltransferases, que trabalham em diferentes cadeias precursoras. Nestas cadeias, pela ação das enzimas produto dos genes Se e H, um monossacarídeo de L-fucose é transferido à galactose terminal, determinando a substância precursora H a partir da qual atuam enzimas codificadas pelos genes do locus ABO. Por outro lado, o gene Lewis é responsável pela síntese de uma  $\alpha 3/4$ -fucosiltransferase que determina a adição de uma fucose ao resíduo N-acetilglucosamina do precursor de cadeia tipo 1 e 2 respectivamente (Figura 12). Assim, o antígeno  $Le^a$  é sintetizado em cadeias tipo 1 e o antígeno  $Le^b$  a partir da interação com o gene Se. Em precursores tipo 2, os isômeros destes antígenos são denominados  $Le^x$  e  $Le^y$ . (HENRY *et al*, 1995).

Nos indivíduos secretores, o gene secretor dominante (Se) é a forma ativa no epitélio glandular, onde ele determina a produção de antígenos H pelo tecido, enquanto que o gene recessivo (se) é incapaz de fazê-lo. O estado secretor modula a produção do antígeno H nas células epiteliais, liberando-o nas secreções e plasma. O gene secretor Se dirige a produção de uma fucosiltransferase específica para a cadeia do tipo 1, levando a produção do antígeno H de cadeia do tipo 1. O gene H está intimamente ligado com o gene secretor no cromossomo 19, e codifica um outro tipo de  $\alpha 2$ -fucosiltransferase a qual transfere uma L-fucose para a cadeia precursora do tipo 2, que é expressada predominantemente nos tecidos de origem ectodermal e mesodermal como nos eritrócitos, determinando a formação do antígeno H de cadeia do tipo 2. (WATKINS *et al*, 1988)

O locus ABO está localizado no braço longo do cromossomo 9. Um resíduo de N-acetil-galactosamina e/ou um resíduo de galactose é acrescentado ao antígeno H determinando os antígenos A e/ou B respectivamente. Os alelos mais importantes do locus ABO são: A, B e O. O alelo O é desprovido de atividade enzimática e seus portadores só expressam o antígeno H, em concentrações máximas nas hemácias e secreções do organismo. O gene O apresenta uma seqüência de nucleotídeos quase idêntica ao do gene A, exceto pela simples deleção da base guanina na posição 261, alterando o quadro de leitura do código genético com o estabelecimento de um códon de parada, levando à síntese de uma enzima truncada e inativa incapaz de modificar o antígeno H. Por isso é considerado um gene silencioso ou amorfo (SZULMA, 1980).

Nos indivíduos com fenótipo A, o gene A produz uma enzima chamada  $\alpha$ -3-N-acetil-D-Galactosamiltransferase que transporta o açúcar N-acetil Galactosamina para a galactose terminal na posição 1 $\rightarrow$ 3 da cadeia precursora H. Nos indivíduos com fenótipo B, o gene B codifica a enzima  $\alpha$ -3-D-Galactosiltransferase, que adiciona uma molécula de galactose à posição 1 $\rightarrow$ 3 da galactose terminal da cadeia precursora. Os fenótipos eritrocitários são definidos pelo antígeno presente na membrana e pelo anticorpo sérico natural correspondente ao antígeno ausente (SZULMA, 1980)

Os antígenos Lewis são formados a partir dos mesmos precursores utilizados no sistema ABO, pois existe uma interação entre o locus Lewis e secretor na expressão destes antígenos. Le<sup>a</sup> e Le<sup>b</sup> são os dois principais antígenos do sistema Lewis. O indivíduo portador do genótipo sese Le<sup>+</sup> forma o antígeno monofucosilado Le<sup>a</sup> devido a ausência do produto do gene secretor. A associação do Le<sup>a</sup> com o determinante antigênico Le<sup>d</sup> ou H tipo 1, em pessoas com o gene Se, determina o tipo de antígeno Le<sup>b</sup>, produto da interação entre

os locis Secretor e Lewis. O antígeno  $Le^b$  consiste de uma cadeia difucosilada resultante da ação da enzima do gene Se que adiciona uma fucose na  $\beta$  Gal da cadeia precursora tipo 1 e da enzima do gene Le, que adiciona uma fucose na  $\beta$ GlcNac da mesma cadeia.

O termo  $Le^c$  foi designado para determinantes antigênicos específicos de indivíduos Lewis negativo e não secretores dos antígenos ABH (lele, sese). Da mesma forma, o  $Le^d$  para designar os determinantes antigênicos presentes nos indivíduos Lewis negativos e secretores de ABH (lele, Se). Deste modo, o antígeno  $Le^c$ , que é o tipo 1 não fucosilado, pode ser referido como um precursor do antígeno  $Le^a$ , enquanto que o antígeno  $Le^d$ , como um antígeno monofucosilado,  $\alpha(1\rightarrow2)$  do tipo 1, precursor do antígeno  $Le^b$ .

Estudos demonstram certas discrepâncias na expressão fenotípica dos antígenos Lewis. Foi observado que alguns indivíduos que são Le(a-b-) nas hemácias, mostram atividade  $Le^b$  em suas secreções. Nestes casos, foi também verificado que  $Le^a$  frequentemente não está presente junto com  $Le^b$ . Isto pode sugerir que a conversão do precursor disponível H tipo 1 (ou  $Le^d$ ) em  $Le^b$  e a conversão do precursor de H do tipo 1 (precursor tipo 1 ou  $Le^c$ ) em  $Le^a$  tornou-se tão ineficiente, que produz epítomos Lewis fenotipicamente indetectáveis, sugerindo que estes indivíduos apresentem um gene Lewis fraco ( $Le^w$ ) (HENRY *et al*, 1995; MAKNI, 1987).

São descritos dois subgrupos de Le(a-b-): genuíno, que não apresenta antígenos nos eritrócitos e na saliva, e também não apresenta atividade enzimática na saliva, e não genuíno, que não apresenta antígeno nos eritrócitos, mais os expressa na saliva, acompanhados da enzima Lewis ou FUT III. Estudos propuseram que o caráter Le(a-b-) genuíno seria resultante do genótipo homozigoto recessivo lele, e o caráter não genuíno seria derivado do genótipo heterozigoto Lele, cujo efeito de dosagem gênica proporcionaria

uma expressão variável dos antígenos que em certas condições fisiológicas ou patológicas passariam a ser sintetizados em quantidades indetectáveis sorologicamente, ou seja, os indivíduos Lewis(a-b-) não genuínos mudariam de Lewis positivo para Lewis negativo no sangue, mas continuariam a expressar Lewis na saliva (ØRNTOFT, 1991).

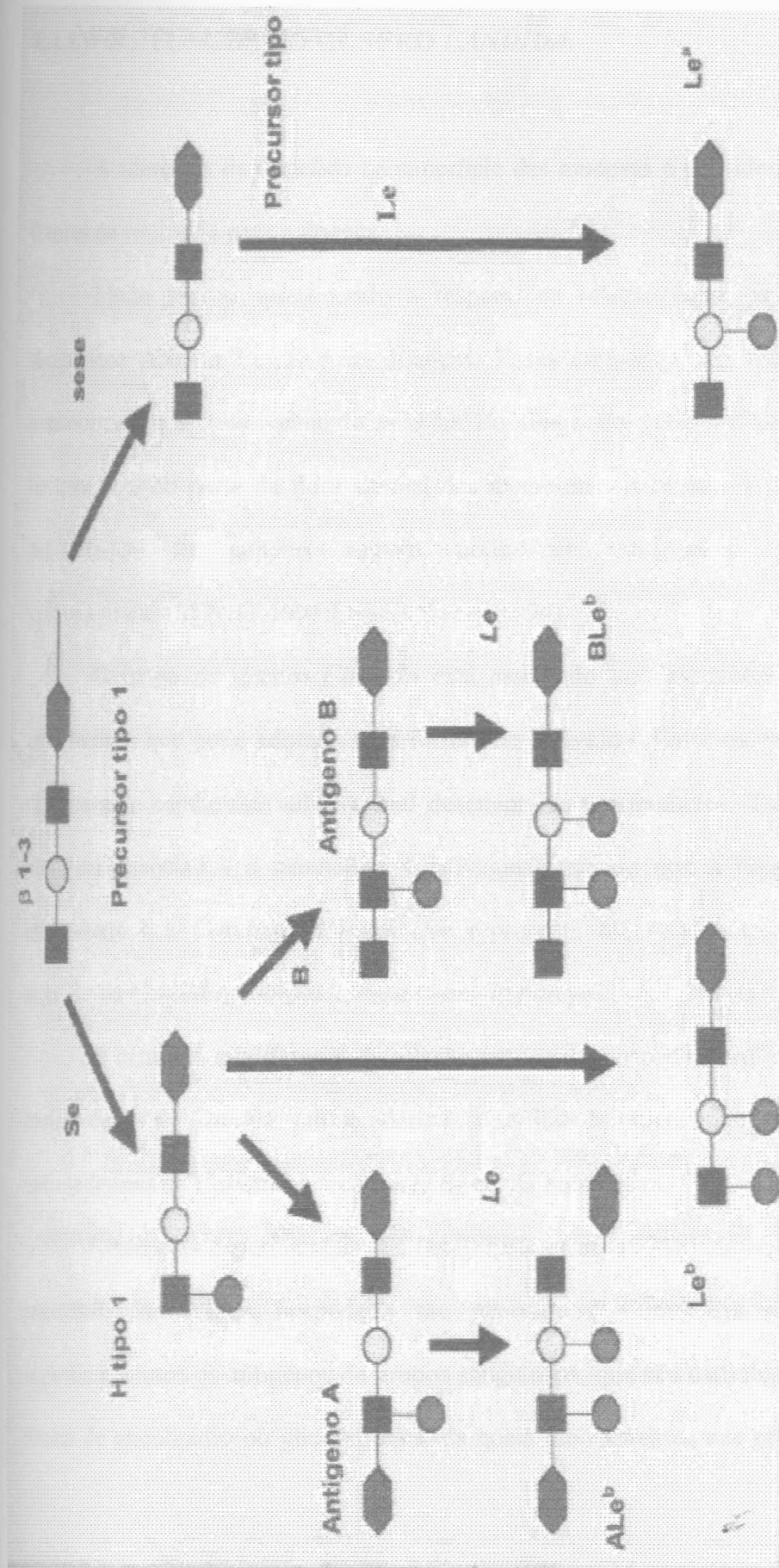


Figura 12: Estrutura e síntese dos antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis, a partir da estrutura precursora tipo 1 em secretores e não secretores. Fucose ● ; Galactose ■ ; N-acetilgalactosamina ◐ ; N-acetilglucosamina ◑ (ALKOUT et al, 1997)

### 1.7. ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTÍGENOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABH E LEWIS E FUNGOS DO GÊNERO *CANDIDA*.

A aderência da *Candida* na superfície das mucosas é considerada um dos principais fatores de virulência para a doença.

Muito tem se questionado a respeito da relação entre os antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis e as doenças. Esses antígenos são receptores de inúmeros microorganismos, possivelmente também do fungo do gênero *Candida*, que coloniza o homem fazendo parte da flora normal das membranas mucosas. A habilidade da *Candida* no ataque do epitélio vaginal pode ter um papel na patogênese das vulvovaginites. (SENET, 1991; ESSERY *et al*, 1994).

O fungo do gênero *Candida* está associado ao desenvolvimento de candidíases, enfermidade que pode adotar várias formas no indivíduo. Entre os quadros de candidíases, destaca-se a candidíase vulvovaginal desenvolvida em mulheres. Trabalhos publicados na literatura associados à candidíase vulvovaginal relatam que a espécie mais comumente encontrada é a *Candida albicans* que representa 89,3% dos casos de vulvovaginites, seguido da *Candida glabrata* 2,7% e *Candida parapsilosis* 1,2% (OTERO *et al*, 1998).

A natureza multifatorial da relação patógeno -hospedeiro reflete-se na habilidade de muitas cepas de *Candida* em se aderir à superfície da mucosa vaginal mediante interações entre adesinas da *Candida* e receptores da célula hospedeira.

Evidências experimentais (SCHAEFFER *et al*, 1994) indicam que os receptores de superfície das células hospedeira são glicosídeos. Como exemplo de receptores de superfície, temos os antígenos de grupos sanguíneos, que são carboidratos apresentados na forma de glicolípido ou glicoproteína, os quais são expressos nas células e estão presentes

no muco. A expressão antigênica é consistente com o tipo de grupo sanguíneo e o estado secretor do indivíduo.

Certamente, alguns tipos de microorganismos podem se ligar a um tipo particular de antígeno de grupo sanguíneo, de modo que, certos antígenos na superfície das células podem ser pré-requisitos para a entrada de alguns micróbios (STAPLETON *et al*, 1992; SCHONITZER, 1997).

A relação entre os grupos sanguíneos e infecções pode ser explicada para os diferentes grupos. Na presença de anticorpos naturais anti-A e anti-B, a disseminação dos antígenos A e B carregados por micróbios é impedida, enquanto que a diminuição destes anticorpos facilita a propagação destes patógenos (SCHONITZER, 1997).

Estudos demonstram que a associação da *Candida* com o organismo hospedeiro pode estar relacionada com antígenos de grupos sanguíneos expressos nas células do epitélio urogenital feminino, atuando como receptor para o microorganismo (LOMBERG *et al*, 1986; SHEINFELD *et al*, 1989).

A adesão de muitas cepas de *Candida albicans* no epitélio vaginal envolve predominantemente interações entre a porção protéica de uma adesina tipo lectina (manose-proteína) da parede celular da levedura e um receptor glicosídico na superfície da célula hospedeira (CAMERON & DOUGLAS, 1996).

LOMBERG *et al* (1986) descrevem um aumento da ligação de bactérias com as células epiteliais em indivíduos Lewis(a+b-) não secretores. É possível que receptores para a *Candida* possam ser protegidos ou encobertos pelo produto do gene secretor, sugerindo uma correlação entre indivíduos não secretores de ABH e uma susceptibilidade do fungo se ligar a células epiteliais. Ao contrário, o estudo realizado por HILTON *et al* (1995) mencionou uma possível associação entre o fenótipo Lewis (a-b-) com uma maior

predisposição a vulvovaginites por *Candida*, pois a presença do produto do gene Lewis, ligando uma L-fucose ao precursor do tipo I poderia conferir uma proteção ao indivíduo através do bloqueio do carboidrato da superfície da célula hospedeira à qual se liga o microorganismo. Teoricamente, o carboidrato não protegido pelo antígeno Lewis, fenótipo Le(a-b-), pode ser exposto e favorecer a adesão da *Candida* ao organismo (LOWE, 1994).

Na tentativa de caracterizar receptores epiteliais para a adesão do fungo do gênero *Candida*, verificou-se que a maioria das cepas de *Candida albicans* ligam-se a um glisídeo contendo L-fucose, sendo que apenas uma cepa (GDH2023) parece ter preferência por receptores contendo N-acetil-galactosamina (CAMERON & DOUGLAS, 1996)

Estudos "*in vitro*" sugerem que o antígeno Le (a+b-), quando adsorvidos pelas células epiteliais podem funcionar como receptores para *Candida albicans*. A habilidade da *Candida albicans* para ligar-se ao antígeno Le<sup>a</sup> parece ser linhagem dependente (MAY *et al*, 1989). A adesina ligada a receptores contendo fucose favoreceria a união da levedura às células epiteliais. Essa adesina possuiria uma certa afinidade pelos resíduos fucosilados dos antígenos H e Lewis, sugerindo assim que sejam possíveis candidatos para receptores das leveduras (TOSH & DOUGLAS, 1992).

Os antígenos de grupo sanguíneo ABH e Lewis são expressos nas células da vagina e no muco, e o modelo de expressão antigênica nestes sítios é consistente com o tipo de grupo sanguíneo e estado secretor do indivíduo (SCHAEFFER *et al*, 1994).

Mudanças na intensidade da expressão antigênica tem sido associada com diferenciação e desenvolvimento do tecido, malignidade e mudanças no ambiente hormonal. Alterações da expressão dos antígenos de grupos sanguíneo em tumores tem sido extensivamente estudadas, e um número de diferentes modificações antigênicas tem sido descritas (SCHAEFFER *et al*, 1994).

O impacto da variação antigênica de grupos sanguíneos na colonização do intróito vaginal por microorganismos ainda não está claro. Estudos do ciclo hormonal sugerem que a expressão desses antígenos varia de acordo com as subfases do ciclo. Essas mudanças incluem aumento e decréscimo dos níveis desses antígenos nas diferentes fases do ciclo (SCHAEFFER *et al*, 1994).

## 1.8. OBJETIVOS: METODOS

Este estudo pretende contribuir para esclarecer os mecanismos de infecção por *Candida* e sua possível associação com os antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis, mediante análise dos exames ginecológicos, da prevalência da infecção por candidíase e da distribuição destes antígenos sanguíneos, em uma amostra de mulheres de Belém – Pará, visando especificamente:

1. Estimar a freqüência da infecção por *Candida sp* em uma amostra de mulheres do Norte do Brasil.
2. Descrever as informações epidemiológicas da amostra estudada.
3. Relacionar a presença da infecção por *Candida sp* com o perfil epidemiológico das mulheres na amostra estudada.
4. Fenotipar os antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis nesta amostra de mulheres.
5. Efetuar análises comparativas entre os antígenos ABH e Lewis presentes na saliva, no sangue e no muco vaginal das amostras estudadas.
6. Verificar a associação dos antígenos dos grupos sanguíneos ABH e Lewis com infecção por *Candida sp*.

## 2.0. MATERIAIS E METODOS

### 2.1. CASUÍSTICA

O estudo compreenderá um total de 165 pacientes do sexo feminino de uma população do Norte do Brasil (Belém-Pará), das quais foram obtidas amostras de sangue, saliva e muco vaginal. Essas amostras foram identificadas fenotipicamente e foi feita a análise da distribuição de antígenos de grupos sanguíneos ABH e Lewis. Tais amostras foram obtidas no Ambulatório do Hospital da Polícia Militar, em mulheres que procuraram essa unidade para a realização de exames ginecológicos, e Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, em mulheres que procuraram essa unidade para a coleta de material ginecológico atendendo à solicitação médica. Logo após a realização do exame, foram coletadas amostras de sangue, saliva e muco vaginal simultaneamente.

O estudo foi submetido ao julgamento e parecer de aprovação do Comitê de Ética, do Núcleo de Medicina Tropical, da UFPA.

Todas as mulheres foram esclarecidas a respeito do estudo e solicitado o seu consentimento e interesse em participar do estudo. À todas as pacientes foi empregado um questionário para a obtenção de dados epidemiológicos.

O grupo controle foi constituído a partir das pacientes, indicadas para exame ginecológico e pertencendo ao mesmo grupo amostral de mulheres, mas que pelos testes laboratoriais não se apresentam infectadas por *Candida sp* ou qualquer outro microorganismo causador de vulvovaginite.

## **2.2. COLETA DAS AMOSTRAS:**

### **2.2.1. MUCO VAGINAL:**

A coleta do material será feita de modo asséptico, evitando-se a contaminação por bactérias normalmente presentes na região vulvar e intróito da vagina.

A amostra vaginal foi coletada com o auxílio de 2 “swabs”. Um foi imers em um tubo contendo solução fisiológica esterilizada; o outro foi usado na confecção de esfregaço em lamina limpa e esterilizada e corada pelo método de Gram. Em casos de vaginites supurativas, devem-se realizar montagens diretas à fresco logo após a coleta e examinar ao microscópio para detectar a presença de células leveduriformes e outros agentes que podem causar vulvovaginites.

### **2.2.2. SALIVA:**

Os indivíduos receberam chumaços de algodão para serem mastigados e umedecidos com saliva. Logo após, o material foi armazenado em vidros esterilizados e estocados à 20°C. Antes do uso, as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e testado pelo método dot-blot-ELISA.

### 2.2.3. SANGUE:

Foram utilizados aproximadamente 3 mL de sangue de cada indivíduo, usando heparina como anticoagulante. O sangue total foi centrifugado a 3000 rpm durante 20 minutos e o plasma separado e estocado à  $-20^{\circ}\text{C}$ . As hemácias foram mantidas à  $4^{\circ}\text{C}$ , para serem testada pelo método de hemaglutinação na identificação dos grupos sanguíneos, num prazo de três dias.

## 2.3. DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS LABORATORIAIS NA IDENTIFICAÇÃO DOS SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABH E LEWIS

Nos eritrócitos, os fenótipos ABH e Lewis foram tipificados pelos testes de Hemaglutinação e dot-blot-ELISA. Na saliva, foi usado o teste dot-blot-ELISA.

Foram empregados anticorpos monoclonais com as seguintes especificidades: anti-A, anti-B, anti-Le<sup>a</sup>, anti-Le<sup>b</sup> (Ortho Diagnostic) e anti-H (Fresenius Diagnostic).

### 2.3.1. HEMAGLUTINAÇÃO:

É uma reação de aglutinação entre os antígenos que estão na superfície das hemácias e anticorpos específicos, que agregam-se formando grumos de células visíveis a olho nu.

O teste é feito misturando em tubos de Griffith, um volume de  $25\mu\text{L}$  de suspensão de hemácias à 5% com igual volume de cada solução de anticorpos específicos, (A, B, H, Le<sup>a</sup> e Le<sup>b</sup>). As amostras foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente, e centrifugadas a 1000 rpm por 5 segundos e lidos os resultados.

### 2.3.2. DOT-BLOT –ELISA

No soro e/ou secreções a caracterização das referidas especificidades ABH e Lewis será baseada na técnica Dot-blot-Elisa, modificada de PLUFG *et al* (1989), como segue.

a) Com uma micropipeta, um volume de 5 $\mu$ L do material a ser testado foi gotejado em uma membrana de nitrocelulose, com dimensão aproximada de 4x7cm, deixando-se secar por 60 minutos a 37°C.

b) As áreas livres da membrana de nitrocelulose foram bloqueadas com um tampão bloqueador (0,01M Tris-HCL Salina, pH 7.4; 1% Triton X-100; 3% BSA) por 45 minutos à temperatura ambiente e com agitação mecânica.

c) Cada pedaço da membrana de nitrocelulose foi incubada com tampão bloqueador, usado como diluente de uma solução contendo o anticorpo secundário(anti-IgM de rato) conjugado à enzima fosfatase alcalina, na diluição de 1:1000, mais o anticorpo primário, um monoclonal com especificidade e diluição apropriada(anti-A 1:50; anti-B 1:100; anti-H 1:20; anti-Le<sup>a</sup> 1:1000 e anti-Le<sup>b</sup> 1:2000).

Esta incubação foi feita em uma placa de vidro coberta com uma película plástica durante 45 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 1mL da solução de anticorpos é suficiente para cada pedaço de membrana de nitrocelulose).

d) Os pedaços da membrana de nitrocelulose foram lavados 6 vezes com tampão de lavagem (0,001M Tris-HCL Salina pH 7.4; 0,005% Triton X-100) durante 5 minutos cada, excluindo Triton X-100 do tampão nas duas últimas lavagens e aplicando constante agitação mecânica para remover o anticorpo excedente.

e) As membranas foram incubadas em um tampão substrato (25ml 0,25M Glicina/NaOH pH 10.4; 500µl 0,1M MgCl<sub>2</sub>; 500µl 0,1M ZnCl<sub>2</sub> ) com mais 100µL da solução do substrato (50mg 5-bromo-4-chloro-3-indolyphosphate dissolvido em 1mL dimethylformamide) a 37°C durante 15 minutos até a visualização de pontos azuis brilhantes no local da reação antígeno-anticorpo, posteriormente as membranas foram lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente para serem analisadas.

## **2.4. DESCRIÇÃO DA TÉCNICA LABORATORIAL UTILIZADA NA IDENTIFICAÇÃO DA *CANDIDA sp.***

### **2.4.1 MÉTODO DE GRAM:**

#### **A) SOLUÇÕES CORANTES:**

- a) Violeta de genciana ou Cristal violeta: corante básico
- b) Lugol: mordente (sensibiliza a célula a receber o corante)
- c) Álcool-acetona ao álcool a 95°C: diferenciador.
- d) Fucsina fenicada diluída ou Solução de safranina: corante de fundo ou contraste.

#### **B) TÉCNICA:**

- a) Cobrir o esfregaço com solução de violeta de genciana durante 1 minuto;
- b) Desprezar o excesso de corante;

- c) Cobrir o esfregaço com lugol para Gram durante 1 minuto;
- d) Lavar em água corrente;
- e) Inclinara lâmina e descorar com álcool-acetona ou álcool a 95°C até que não se desprenda mais corante (não excedendo 30 segundos);
- f) Lavar em água corrente;
- g) Cobrir o esfregaço com fucsina de Gram ou Solução de safranina por 30 segundos;
- h) Lavar o esfregaço em água corrente;
- i) Deixar secar e observar em microscópio óptico comum em objetiva de 100x.

## 2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA:

As análises estatísticas foram realizadas usando o programa de computação BioEstat 2.0 (AYRES *et al* 2000). A avaliação da diferença entre duas amostras independentes foi realizada comparando as proporções pelos testes de Woolf (Teste G), Teste do Qui-Quadrado, Cálculo das Razões de Disparidade ("Odds" Ratios). A análise de regressão logística foi usada para obtenção de OR (Odds" Ratios) dos dados brutos e ajustados e o intervalo de 95%; nesta análise, variáveis indicadoras foram usadas para representar categorias dos fatores de estudo. Valores em P bicaudal  $< 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

### 3.0. RESULTADOS

O microorganismo do gênero *Candida* é um dos principais agentes causadores de vulvovaginites, e baseado nessa informação foi investigada a associação deste patógeno em mulheres não grávidas com sintomas característicos dessa infecção na cidade de Belém – Pará, 2002. Foram analisadas amostras de 165 pacientes do sexo feminino, pareadas de sangue, saliva e muco vaginal, para análise de grupos sanguíneos ABO e Lewis, e exame de secreção vaginal.

Os resultados demonstraram que, de acordo com os exames de bacterioscopia da secreção vaginal, 69 (41,8%) das mulheres apresentaram resultados negativos para a presença de microorganismos no muco vaginal, constituindo então o grupo controle, 96 (58,2%) mulheres apresentaram positividade para vulvovaginite causada por agentes infecciosos laboratorialmente confirmados, sendo que destas, 79 (47,9%) apresentaram infecção por *Candida sp*, 10 (6,1%) infecção por *Gardinerella vaginalis*, e em 7( 4,2%) casos observou-se a infecção por *Candida sp* associada a outros microorganismos, sendo que 4 (2,4%) apresentaram uma associação com *Gardnerella vaginalis* e 3 (1,8%) uma associação com *Trichomonas vaginalis*. Estes dados estão demonstrados nas tabelas 1 e 2, e representados na figura 13.

**Tabela 1.** Presença de vulvovaginites em um grupo de mulheres da cidade de Belém-PA, 2002.

<b>Vulvovaginite</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Presente	96	58,2
Ausente	69	41,8
<b>Total</b>	<b>165</b>	<b>100</b>

**Tabela 2.** Mulheres infectadas por *Candida sp* e outros parasitas detectados por diagnóstico laboratorial em uma amostra de mulheres em Belém - Pará (2002).

<b>Diagnóstico laboratorial</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Normal	69	41,8
<i>Candida sp</i>	79	47,9
<i>Gardnerella vaginalis</i>	10	6,1
<i>Candida sp</i> + outros*	07	4,2
<b>Total</b>	<b>165</b>	<b>100</b>

\* *Candida sp* e *Gardnerella vaginalis*, 4 ( 2,4% ), *Candida sp* e *Trichomonas vaginalis* 3 (1,8%).

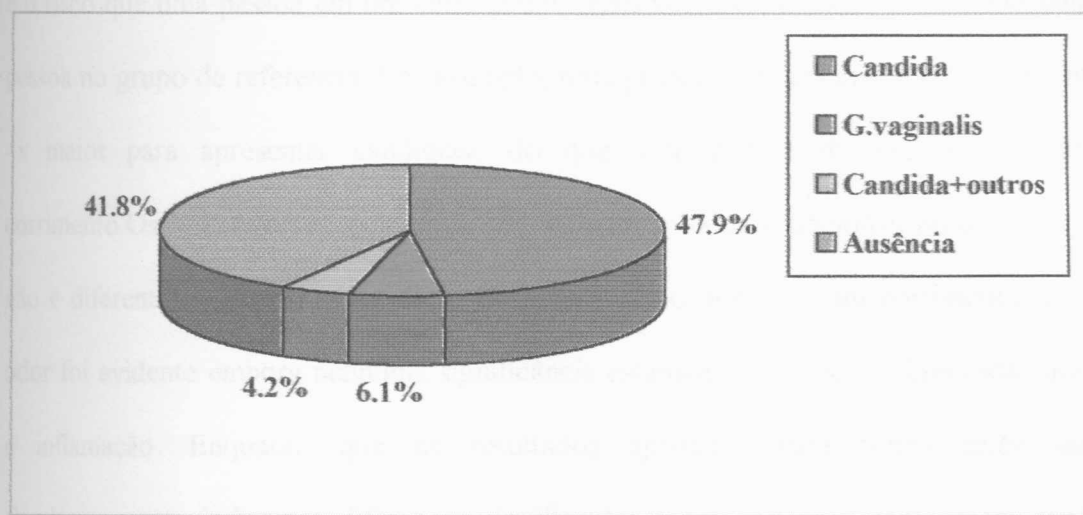


Figura 13: Frequência de mulheres infectadas por *Candida sp* e outros microorganismos na amostra estudada, em Belém – Pará (2002).

### 3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS INFORMAÇÕES CLÍNICAS

Um levantamento dos sintomas clínicos associados com a infecção por *Candida sp*, na amostra total de 165 pacientes, demonstrou que 22 (13,3%) pacientes apresentavam corrimento, 15 (9,1%) apresentavam outros sintomas como prurido, ardência, odor e inflamação, 80 (48,5%) apresentavam corrimento associado com um ou mais desses sintomas, 16 (9,7%) apresentavam associação de todos os sintomas clínicos e 32 (19,4%) não apresentavam nenhum dos sintomas (Tabela 3).

A apresentação dos sintomas clínicos na população de mulheres de acordo com a presença ou ausência da infecção por *Candida sp* está discriminada na tabela 4. Uma análise de regressão foi empregada para avaliar a relação entre os sintomas clínicos e a infecção por *Candida sp*. Os correspondentes odds ratio (OR) estimados para cada covariante e intervalos de confiança de 95% estão apresentados na tabela 4. O OR estimado

é o risco que uma pessoa em um certo grupo desenvolve candidíase, comparado com uma pessoa no grupo de referência. Por exemplo, uma pessoa que tem corrimento, tem um risco 4x maior para apresentar candidíase do que uma pessoa do grupo que não tem corrimento. Os intervalos de confiança que incluem o valor 1 demonstram que o estimado não é diferente estatisticamente de 1. Uma associação positiva com corrimento, prurido e odor foi evidente embora nenhuma significância estatística tenha sido observada para ardor e inflamação. Enquanto que os resultados ajustados para todos estes sintomas simultaneamente indicaram diferenças significantes entre mulheres com e sem candidíase em favor dos sintomas corrimento e prurido. Neste modelo, o dor não foi estatisticamente significativa, e também pelo fato da análise ter sido feita separadamente para cada variante, parte do aumento ou diminuição nos ORs estatisticamente significantes podem simplesmente ser devido a resultados modificados nas comparações múltiplas. Sendo assim, mulheres com sintomas de corrimento e prurido tem um risco 3x maior de estarem infectadas por *Candida sp.*

Quando comparamos a distribuição da sintomatologia, de pacientes classificada em sintomáticas e assintomáticas, relacionada com a presença ou ausência da infecção por *Candida sp.*, observamos uma associação altamente significativa entre a presença de sintomas no grupo de mulheres infectadas por *Candida sp.* e de assintomáticos no grupo controle (Tabela 5).

Tabela 3. Distribuição dos sintomas clínicos em mulheres com e sem infecção vulvovaginal em Belém – Pará (2002).

Sintomas clínicos	N	%
Corrimento	22	13,3
Outros sintomas	15	9,1
Corrimento+ outros sintomas	80	48,5
Todos os sintomas	16	9,7
Ausência de sintomas	32	19,4
<b>Total</b>	<b>165</b>	<b>100</b>

Tabela 4. Apresentação dos sintomas clínicos da população de mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp*, em Belém – Pará (2002).

Sintomas	<i>Candida</i>		OR (IC 95%)	
	Infectadas	Não-infectadas	Univariada	Ajustada*
Corrimento	71	38	3,8 (1,8 a 8,0)	2,9 (1,2 a 6,9)
Prurido	50	23	2,7 (1,4 a 5,3)	2,2 (1,0 a 4,8)
Ardor	39	23	1,6 (0,8 a 3,1)	—
Odor	34	15	2,3 (1,1 a 4,8)	1,2 (0,5 a 2,9)
Inflamação	32	19	1,7 (0,8 a 3,5)	—

\* Valores ajustados para todos os outros sintomas listados.

Tabela 5. Distribuição da sintomatologia em mulheres com e sem infecção vulvovaginal por *Candida sp*, em Belém – Pará (2002).

Sintomatologia	Candida (%)	Controle (%)	Total
Sintomáticos	80 (66,6)	40 (33,4)	120
Assintomáticos	6 (17,1)	29 (82,9)	35
<b>Total</b>	<b>86</b>	<b>69</b>	<b>155</b>

$$\chi^2 = 23,611; \text{gl} = 1; p = 0,0001$$

### 3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS

O perfil epidemiológico da amostra estudada considerou as seguintes variáveis: faixa etária, vida sexual, ciclo hormonal, uso de métodos contraceptivos, como preservativo e anticoncepcional, casos de infecções anteriores e condições de saneamento.

Com relação à faixa etária, das 165 pacientes, 46 (27,9%) se encontravam na faixa de 0 a 20 anos, 95 (57,6%) na faixa de 20 a 40 anos e 24 (14,5%) tinham acima de 40 anos (Figura 14).

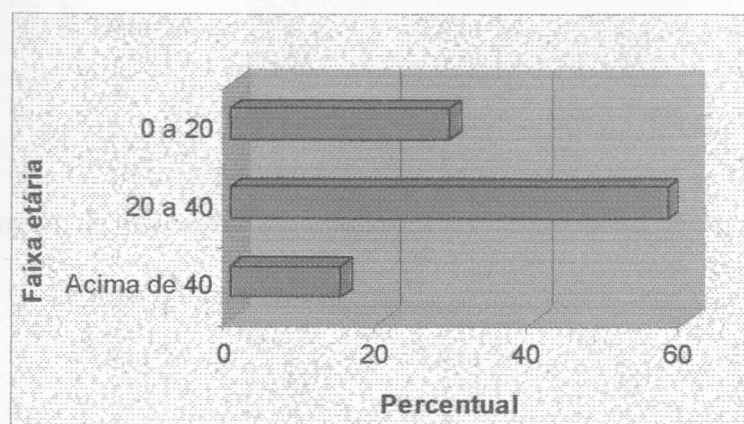


Figura 14. Faixa etária das mulheres na amostra estudada, em Belém –Pará (2002).

Em relação à frequência da atividade sexual, 36 (21,8%) mulheres declararam não terem atividade sexual, enquanto que 129 (78,2%) eram sexualmente ativas (Figura 15). Dessas, 93,8% (121/129) possuíam parceiros fixos e 6,2 (8/129) tinham mais de um parceiro (Figura 16).

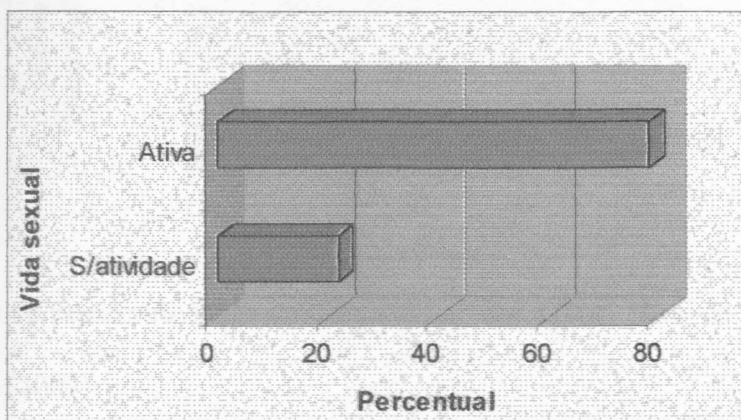


Figura 15. Frequência da atividade sexual das mulheres na amostra estudada, em Belém - Pará (2002).

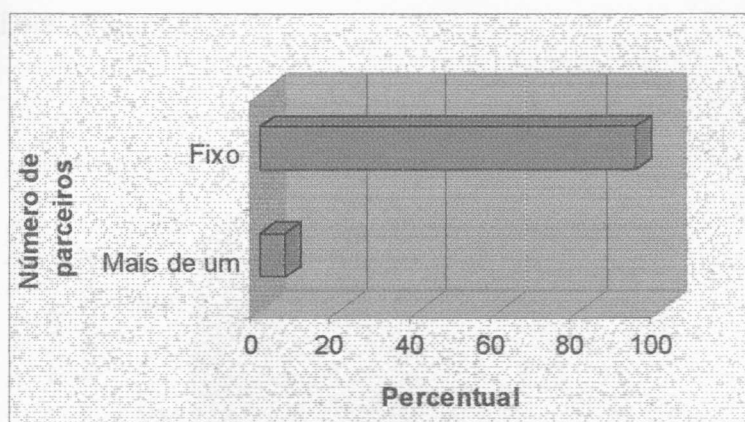


Figura 16. Número de parceiros das mulheres na amostra estudada, em Belém -Pará (2002).

Das 129 mulheres sexualmente ativas, 48 (37,2%) faziam uso de preservativo (Figura 17).

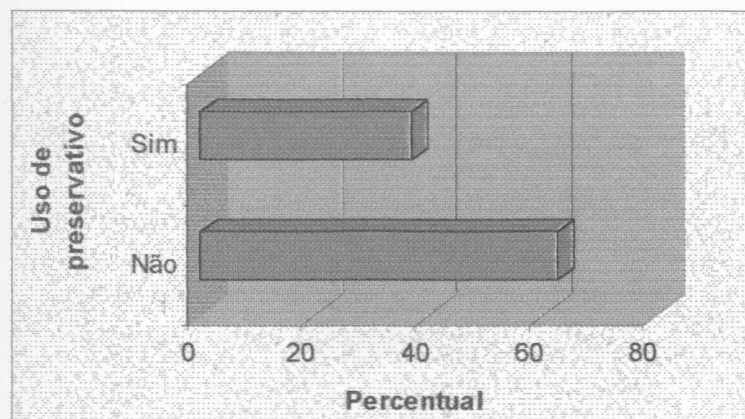


Figura 17. Uso de preservativo por mulheres com vida sexual ativa da amostra estudada, em Belém -Pará (2002).

Da população de mulheres estudadas, apenas 7,3% (12/165) faziam uso de anticoncepcional oral (Figura 18).

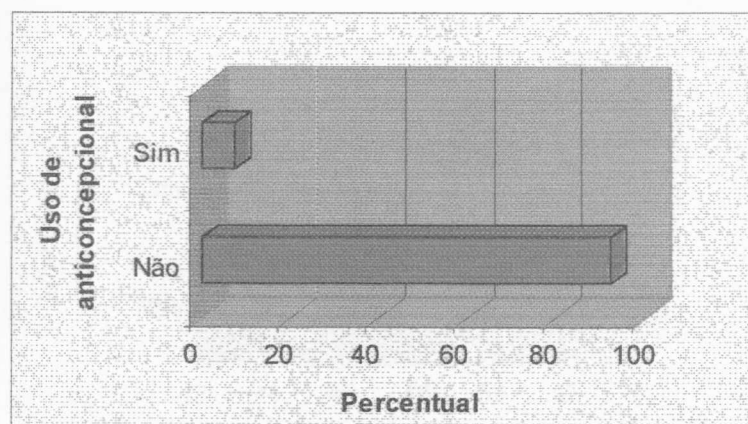


Figura 18. Uso de método anticoncepcional por mulheres da amostra estudada, em Belém -Pará (2002).

Quanto ao ciclo hormonal, 29,7% (49/165), se encontravam na fase proliferativa, 9,7% (37/165) na ovulação, 37,6% (62/165) na fase secretória, 5,4% (9/165) na menopausa e 17,5% (29/165) não foi possível especificar a fase do ciclo (Figura 19).

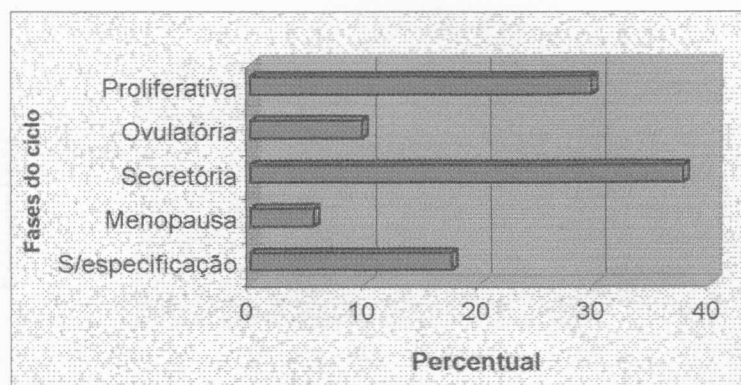


Figura 19. Perfil do ciclo hormonal das mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).

Em relação a casos de infecções vulvovaginais anteriores, 53,3% (88/165) já apresentaram esse tipo de infecção pelo menos uma vez (Figura 20).

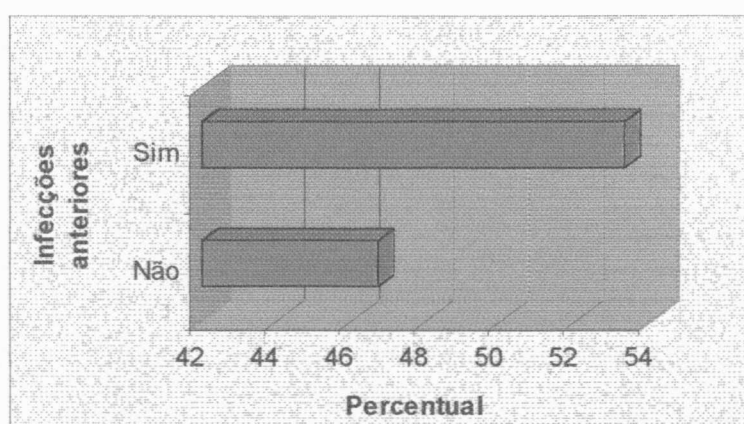
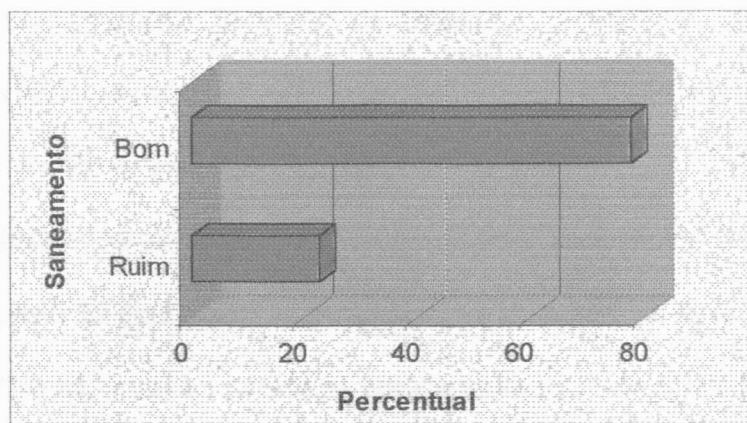


Figura 20. Infecções vulvovaginais anteriores nas mulheres da amostra estudada, em Belém –Pará (2002).

Da população de mulheres estudadas, 128 (77,6%) vivem em boas condições de saneamento (água encanada, esgoto), sendo que 37 (22,4%) vivem em condições precárias de saneamento (Figura 21).



**Figura 21.** Condições de saneamento da residência das mulheres da amostra estudada, em Belém-Pará (2002).

### 3.3. RELAÇÃO DA INFECÇÃO POR *CANDIDA SP* E OS FATORES DE RISCO ESTUDADOS

A demonstração das informações epidemiológicas como faixa etária, vida sexual, uso de preservativo, parceiro fixo, uso de método contraceptivo, casos de infecções passadas, e o perfil hormonal da população de mulheres em relação à presença ou ausência da infecção por *Candida sp* está discriminada na tabela 6.

Nesta tabela observa-se que entre as mulheres com menos de 40 anos, 59,5% (78/131) foram positivas para *Candida sp*, enquanto que aqueles na faixa etária acima de 40 anos 66,7% (16/24) não estavam infectadas por *Candida sp*. A média de idade das mulheres infectadas por *Candida sp* foi de 25,7, com desvio padrão de  $\pm 9,27$ , enquanto que no grupo de mulheres não infectadas foi de 30,4, com desvio  $\pm 13,7$ .

Modelos de regressão logística com uma única covariante não foram estatisticamente significantes para vida sexual (atividade sexual x sem atividade); parceiro fixo (sim x não); uso de anticoncepcional (sim x não); fase do ciclo hormonal (secretória x outras). Porém, os modelos para as variáveis faixa etária ( $\leq 40$  anos x  $\geq 40$  anos), uso de preservativo (sim x não) e infecções anteriores (sim x não) foram estatisticamente significantes. A tabela 6 mostra os odds ratio (OR) para cada covariante e o correspondente intervalo de confiança de 95%. Portanto, somente o não uso de preservativo, a presença de infecções anteriores e mulheres na faixa etária com menos de 40 anos parecem ter um efeito na infecção por *Candida sp*. Embora estas categorias contenham o maior número de sujeitos no grupo com a infecção. Também foi realizada a regressão logística ajustando para todas estas 3 covariantes, na seguinte ordem de entrada, faixa etária, uso de preservativo e infecções anteriores. Neste modelo, estas covariantes também foram

significantes estatisticamente, sugerindo novamente que estas variáveis estão associadas com o desenvolvimento de candidíase.

Então, de um modo geral, a probabilidade de candidíase passa a ser de:

- 1) 10% em mulheres com mais de 40 anos que usam preservativo e sem infecções anteriores.
- 2) 39 % em mulheres com mais de 40 anos que usam preservativo e com infecções anteriores.
- 3) 22% em mulheres com mais de 40 anos que não usam preservativo e sem infecções anteriores.
- 4) 38,5 % em mulheres com mais de 40 anos que não usam preservativo e com infecções anteriores.
- 5) 35% em mulheres com menos de 40 anos que usam preservativo e sem infecções anteriores.
- 6) 53% em mulheres com menos de 40 anos que usam preservativo e com infecções anteriores.
- 7) 58% em mulheres com menos de 40 anos que não usam preservativo e sem infecções anteriores.
- 8) 75% em mulheres com menos de 40 anos que não usam preservativo e com infecções anteriores.

Tabela 6: Apresentação das informações epidemiológicas da população de mulheres e a infecção por *Candida sp*, em Belém – Pará (2002).

Categoria	Tamanho amostral n	<i>Candida</i>		OR (IC 95%)	
		Positivo	Negativo	Univariada	Ajustada
<b>Faixa etária</b>					
≤ 40	131	78 (59.5)	53 (40.5)	2,9 (1,17 a 7,36)	3,6 (1,3 a 9,6)
> 40	24	8 (33.3)	16 (66.7)		
<b>Vida sexual</b>					
Ativa	119	65 (54.6)	54 (45.4)	0,85 (0,4 a 1,8)	—
Sem atividade	36	21 (58.3)	15 (41.7)		
<b>Uso de preservativo</b>					
Sim	44	19 (43.1)	25 (56.9)	2,0 (0,9 a 4,0)	2,6 (1,2 a 5,9)
Não	75	46 (61.3)	29 (38.7)		
<b>Parceiro fixo</b>					
Sim	112	60 (53.5)	52 (46.5)	0,7 (0,1 a 3,1)	—
Não	7	5 (71.4)	2 (28.6)		
<b>Uso de anticoncepcional</b>					
Sim	10	6 (60.0)	4 (40.0)	1,2 (0,3 a 4,5)	—
Não	145	80 (55.1)	65 (44.9)		
<b>Infecções anteriores</b>					
Sim	81	53 (65.4)	28 (34.6)	2,2 (1,17 a 4,27)	2,1 (1,07 a 4,1)
Não	74	33 (44.5)	41 (55.5)		
<b>Fase do ciclo</b>					
Secretória	58	33 (56.8)	25 (43.2)	1,2 (0,6 a 2,5)	—
Outra	71	36 (50.7)	35 (49.3)		

### 3.4. CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SECRETOR ABH E LEWIS

A distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos ABO e Lewis, e o estado secretor ABH, estudada na amostra de 155 mulheres, foi classificada em mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp.* Dessas mulheres, 95 (61,3%) pertenciam ao grupo sanguíneo O, 39 (25,2%) ao grupo A, 20 (12,9%) ao grupo B, e 1 (0,6%) pertencia ao grupo sanguíneo AB.

Em relação ao fenótipo Lewis salivar, 9 (5,8%) pertenciam ao grupo sanguíneo Lewis (a+b-), 130 (83,9%) ao Lewis (a-b+) e 16 (10,3%) ao grupo sanguíneo Lewis (a-b-). Dessas, 146 (94,2%) eram secretoras de substâncias ABH e 9 (5,8%) eram não-secretoras. Esses dados estão demonstrados na tabela 7.

As comparações das frequências dos grupos sanguíneos ABO e Lewis, e estado secretor ABH, no grupo de mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp.*, não demonstraram diferenças estatísticas significantes, cujo resultados estão discriminados no rodapé da tabela 7.

A distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos Lewis no sangue, saliva e muco vaginal no grupo de mulheres infectadas e não infectadas por *Candida sp.* está demonstrado na tabela 8 e representado na figura 22.

Na referida tabela 8, no grupo de 15 mulheres do fenótipo eritrocitário Le(a+b-) observou-se que 7 (2 pacientes; 5 controle) manifestavam o mesmo fenótipo na saliva e apenas 4 (1 paciente; 3 controle) tinham este fenótipo no muco, mas 8 tanto na saliva (3 paciente; 5 controle) como no muco vaginal (2 pacientes; 6 controle) tinham além de Le(a+b-) também antígeno Le(a-b+) tanto na saliva como no muco e 3 (2 pacientes; 1 controle) apresentavam o fenótipo Le(a-b-) no muco vaginal.

Em relação aquelas 107 mulheres (61 pacientes e 46 controle) do fenótipo eritrocitário Le(a-b+) todas concordavam quanto a este fenótipo na saliva, enquanto que 95 destas mulheres (56 infectadas e 39 não infectadas) apresentavam também o fenótipo Le(a-b+) no muco vaginal, contudo 4 expressavam apenas o antígeno Le(a+b-) e 8 (4 pacientes; 4 controle) manifestavam ausência tanto de Le(a+b-) como de Le(a-b+) na secreção vaginal.

Entre as 33 mulheres (20 infectadas e 11 não infectadas) do fenótipo eritrocitário Le(a-b-), verifica-se que destas, 16 (11 pacientes; 5 controle) ao nível salivar e 8 (4 pacientes; 4 controle) no muco vaginal concordavam quanto a ausência de antígeno Lewis, sendo que 2 mulheres (grupo controle) apresentavam o antígeno Le(a+b-) tanto no muco quanto na saliva, enquanto que 23 mulheres (16 pacientes ; 7 controle) expressavam no muco e 15 (9 pacientes; 6 controle) na saliva o antígeno Le(a-b+).

Verifica-se que saliva e secreção vaginal expressam antígenos Lewis independentes do fenótipo predito ao nível eritrocitário, evidenciadas pelas diferenças estatisticamente significantes (Figura 22) da associação dos fenótipos Le(a+b-), Le(a-b+) e Le(a-b-) entre eritrócito e saliva ( $\chi^2 = 9,63$ ; GL= 2; p = 0,008) e entre eritrócito e muco vaginal ( $\chi^2 = 6,319$ ; GL=2; p= 0,0425). Mesmo que o número de mulheres por classe fenotípica seja pequeno, nota-se uma variação tecidual na expressão dos antígenos Lewis, que tendem a manifestar em ambas as secreções , salivar e vaginal, ora um ganho, ora uma perda de antígeno Leb, que estavam ausentes ou presentes respectivamente nas hemácias. Por outro lado, o teste, relativo aos totais especificados na tabela 8 e figura 22, não revelou diferenças significantes na distribuição destes fenótipos Lewis entre as secreções salivar e vaginal ( $\chi^2 = 0,3723$ ; GL= 2; p= 0,83)

Neste sentido, os antígenos Lewis detectados ao nível das secreções salivar e vaginal foram classificados em concordantes, quando estes apresentavam expressão similar e estavam correlacionados aos fenótipos eritrocitários e como discordantes, se ocorria uma expressão discrepante aos antígenos Lewis presentes nos eritrócitos. As comparações dos fenótipos Lewis concordante e discordante entre eritrócito /saliva e eritrócito/ muco vaginal estão dispostos na tabela 9.

Na análise da expressão de antígenos Lewis detectados por métodos sorológicos utilizando anticorpos monoclonais, em espécimes pareadas de saliva, muco vaginal e eritrócitos, foi obtido para o teste de independência do Qui-quadrado resultado altamente significativo ( $\chi^2=10,3731$ ; GL=3;  $p= 0,0156$ ), relativo a distribuição dos fenótipos Lewis concordante e discordante observados entre eritrócito/saliva e eritrócito/muco vaginal.

A partição dos conjuntos amostrais testados permite esclarecer que a distribuição dos fenótipos Lewis concordantes e discordantes entre eritrócito/ saliva nos grupos de pacientes e controle não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ( $p= 0,47$ ). Quando comparados, entretanto com aquelas ao nível de eritrócito/ muco vaginal de pacientes e controle, partições 2L:3C e 2L:4C respectivamente, verifica-se que as discrepâncias são muito significantes ( $p=0,0233$ ; e  $p= 0,0298$ ), conforme descrição das análises estatísticas demonstradas na tabela 9. Portanto, a interpretação é de que este padrão de expressão dos fenótipos Lewis concordante e discordante entre eritrócito/ saliva difere estatisticamente daqueles entre eritrócito/ muco vaginal, em cujos compartimentos observou-se associações tanto no grupo controle como no grupo de pacientes.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

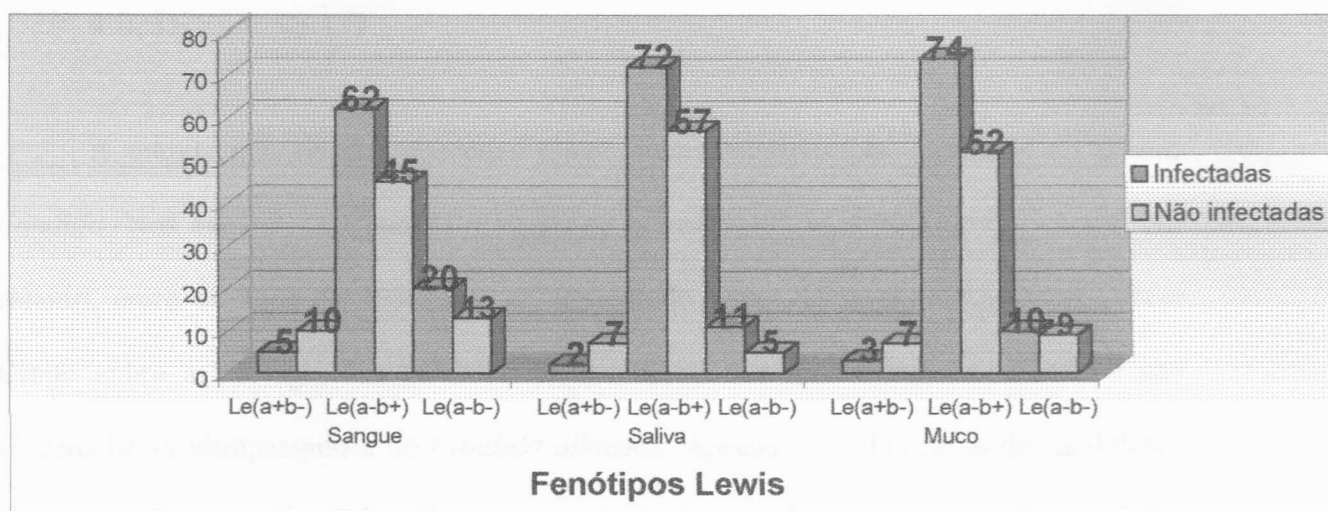
**Tabela 7.** Distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos ABO e Lewis, e estado secretor ABH em mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp*, em Belém-Pará (2002).

Fenótipo	<i>Candida</i>		Total
	Infectadas n(%)	Não-infectadas n(%)	
<b>(I) ABO</b>			
O	49 (51,6)	46 (48,4)	95
A1	22 (66,7)	11 (33,3)	33
A2	1 (16,7)	5 (83,3)	6
B	13 (65)	7 (35)	20
AB	1 (100)	-	1
<b>(II) Lewis salivar</b>			
Le(a+b-)	2 (22,2)	7 (77,8)	9
Le(a-b+)	73 (56,2)	57 (43,8)	130
Le(a-b-)	11 (68,7)	5 (31,3)	16
<b>(III) Estado Secretor ABH</b>			
Secretor	84 (57,5)	62 (42,5)	146
Não-Secretor	2 (22,2)	7 (77,8)	9
<b>Total</b>	<b>86</b>	<b>69</b>	<b>155</b>

**(I)**  $\chi^2 = 1,842$ ; gl= 2; p= 0,3981; **(II)** Teste G(Williams)= 5,1261; gl= 2; p= 0,0771; **(III)**  $\chi^2$  (Yates) = 0,743; gl= 1; p= 0,3887

**Tabela 8.** Correlação dos fenótipos Lewis na saliva e secreção muco vaginal em relação aos eritrocitários em mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp*, em Belém-Pará (2002).

Fenótipo Lewis ao nível das secreções	Fenótipo		Eritrocitário		Lewis		Total		
	Le(a+b-)		Le(a-b+)		Le(a-b-)		P	C	
	P	C	P	C	P	C			
<b>Le(a+b-)</b>									
Saliva	2	5	-	-	-	2	2	7	
Muco vaginal	1	3	1	3	-	2	2	8	
<b>Le(a-b+)</b>									
Saliva	3	5	61	46	9	6	73	57	
Muco vaginal	2	6	56	39	16	7	74	52	
<b>Le(a-b-)</b>									
Saliva	-	-	-	-	11	5	11	5	
Muco vaginal	2	1	4	4	4	4	10	9	
<b>Total</b>									
<b>Saliva/muco vaginal</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>61</b>	<b>46</b>	<b>20</b>	<b>13</b>	<b>86</b>	<b>86</b>	



**Figura 22.** Distribuição dos fenótipos de grupos sanguíneos Lewis no sangue, saliva e muco vaginal em mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp*, em Belém-Pará

**Tabela 9.** Comparação dos fenótipos Lewis concordante e discordante entre eritrócitos e as secreções salivar e vaginal em mulheres infectadas e não infectadas por *Candida sp*, em Belém-Pará (2002).

Fenótipo Eritrocitário Lewis	Fenótipo Lewis					
	Saliva			Muco		
	P	C	Total	P	C	Total
<b>Concordante</b>	74	56	130	61	46	107
<b>Discordante</b>	12	13	25	25	23	48
<b>Total</b>	86	69	155	86	69	165

#### 4.0. DISCUSSÃO

A grande maioria das infecções fúngicas são causadas por leveduras do gênero *Candida*. Nos anos 60, a *Candida albicans* representava 85 % a 90% dos episódios. No entanto, entre os anos de 1988 e 1992, um estudo realizado no MD Anderson Câncer Center sobre a etiologia das candidíases, identificou que a incidência de *Candida* não *albicans* havia ultrapassado a de *Candida albicans*. Apenas 42% dos casos de candidemia eram causadas por *Candida albicans*, enquanto que as demais espécies desse gênero respondiam pelos demais casos, destacando-se principalmente *Candida tropicalis* (18%), *Candida parapsilosis* (17%), *Candida glabrata* (11%) e *Candida krusei* (4%) (ABI-SAID *et al*, 1994).

A presença desses microorganismos gera dúvida sobre o seu significado clínico, uma vez que pode indicar apenas colonização, pois esta levedura faz parte da flora normal dos indivíduos. Entretanto, suas manifestações estendem-se desde a simples colonização da mucosa até a invasão múltipla dos órgãos (KENT, 1991; COLOMBO, 2000).

A defesa mucosal do hospedeiro contra o desenvolvimento da infecção sistêmica é mediada pela imunidade celular (linfócito T, macrófagos e células NK), cujos mecanismos específicos envolvendo as interações entre os fungos e o sistema imune humano ainda não estão claros. Contudo, a deficiência no mecanismo de defesa do hospedeiro pode explicar o risco no desenvolvimento da candidemia e outros sintomas graves da candidíase (CASADEVALL, 1995).

A vulvovaginite causada por *Candida* é a mais freqüente infecção na mucosa vaginal, afetando um número significativo de mulheres na idade reprodutiva (SOBEL, 1992). Vários estudos tem questionado a respeito da relação entre os antígenos de grupos

sanguíneos ABH e Lewis e as doenças. Esses antígenos são receptores de inúmeros microorganismos, possivelmente do fungo do gênero *Candida*, que habita o homem fazendo parte da flora normal das membranas mucosas (SENET, 1991; ESSERY *et al*, 1994). O conhecimento da vulvovaginite causada por fungos do gênero *Candida* está relacionado com sua frequência e sua recorrência (VAL & GUTEMBERG FILHO, 2001). A *Candida* é classificada como fungo gram-positivo, dimorfo, saprófita, com virulência limitada, sendo encontrada na vagina em 20% de mulheres sadias e assintomáticas (SPINILLO *et al*, 1992; SOBEL *et al*, 1998).

No presente estudo, foram submetidos a exames laboratoriais um total de 165 mulheres, para verificar a incidência de microorganismos, particularmente o do gênero *Candida*. HALBE *et al* (1996), em seus trabalhos, demonstrou a incidência dos diversos agentes causadores de vaginites e vaginoses, como *Candida sp*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*, e indica os fungos como o principal causador, e coloca as infecções causadas por *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em segundo e terceiro lugar respectivamente, desde que não constitua-se em grupo de promiscuidade sexual. Neste caso, a incidência para estas duas infecções, pode atingir até o primeiro e o segundo lugar (TAFURI & RASO, 1991; ZANINI, 1995). ADAD *et al* (2001), num estudo retrospectivo durante os anos de 1968, 1978, 1988 e 1998, observaram uma diminuição na frequência de infecções causadas por *Trichomonas vaginalis* e um aumento na frequência de *Candida sp*. A classificação observada no presente estudo em relação à ocorrência desses microorganismos presentes na flora vaginal está de acordo com os achados na literatura.

Mulheres com sintomas de prurido e corrimento vaginal tem um número elevado de leveduras no conduto vaginal e são observados em um número significativo de mulheres com candidíase vulvovaginal (FERREIRA & ÁVILA, 1996; NASCIMENTO *et al*, 1999;

AZZAM *et al*, 2002). As leveduras do gênero *Candida* existem na forma de esporos e hifas, e estas quando agrupadas, formam os micélios, que por sua vez são os responsáveis pela invasão da mucosa vaginal ocasionando o prurido (SOBEL, 1990). Segundo GIRALDO (1994), ao exame clínico de colo uterino, o achado mais freqüente é a inflamação, ocorrendo em 60 % dos casos. No entanto este mesmo autor afirma que 20% dos casos não apresentavam corrimento e nem colo clinicamente suspeito de candidíase. Neste estudo, o achado clínico mais comum foi o de corrimento, que além de estar presente isoladamente, se encontrava associado com outros sintomas, como prurido, ardor, odor e inflamação. A presença desse sintoma mostrava um risco maior das pacientes apresentarem infecção por *Candida sp* (OR= 3,8; IC 95% 1,8 - 8,0).

A candidíase é uma das causas mais freqüentes de vulvovaginite, sendo ainda maior durante a gravidez (SOBEL, 1990; SPINILLO *et al*, 1992; REED & EYLER, 1993). A incidência de infecção vaginal em mulheres não grávidas pode estar relacionada com fatores endógenos e exógenos (hormônio-dependente da idade, ciclo menstrual, alterações metabólicas, relacionamento sexual, uso de anticoncepcional, drogas imunossupressoras, antibióticos e fatores fisiológicos e genéticos - aderência de microorganismos às células epiteliais da vagina e os fenótipos de grupos sanguíneos ABH e Lewis, prováveis marcadores de predisposição a infecção vaginal) associados ao estilo de vida de cada mulher. As figuras 14,15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21 revelam o perfil epidemiológico deste estudo, principalmente no que diz respeito a fatores e hábitos ligados a vida sexual dessas mulheres.

Neste estudo, mulheres com infecção por *Candida sp* apresentavam idade média de 25,7, estando numa faixa etária inferior a 40 anos. Mulheres com idade inferior a 30 anos e sexualmente ativas tem um maior risco de se infectar por alguma doença sexualmente

transmissível (CODES *et al*, 2002). ADAD *et al* (2001), observou em seus trabalhos que as infecções causadas por *Candida sp*, *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis* são mais freqüentes em pacientes com idade inferior a 20 anos. Segundo NASCIMENTO *et al* (1999), a candidíase é mais freqüente em mulheres com idade abaixo de 35 anos. Outros trabalhos (SPINILLO, 1995; HIGASHIDE *et al*, 1988; AZZAM *et al*, 2002) revelam a prevalência dessa infecção numa faixa etária de 15 a 35 anos. Torna-se relevante os comentários de HIGASHIDE *et al* (1988) e SPINILLO (1995), que em seus trabalhos comparam a faixa etária com a infecção por *Candida albicans* e *Candida* não albicans. Esses autores notaram uma maior freqüência de *Candida glabrata* em mulheres com idade acima de 38 anos, uma prevalência na faixa etária de 15 a 34 anos para *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, enquanto que para *Candida parapsilosis* a prevalência foi maior na faixa etária de 40 a 50 anos.

De acordo com SANCHES-VEGA (1993), pacientes em plena atividade sexual tem uma maior positividade em relação à infecção por *Candida sp*. Observou-se neste estudo um aumento dessa infecção em pacientes com vida sexual ativa, concordando com o achado na literatura. No entanto, o número de mulheres que constituíam o grupo de promiscuidade sexual era muito baixo na amostra estudada, o que inviabiliza os testes estatísticos entre esse grupo de mulheres com a presença ou ausência da infecção por *Candida sp*. Pacientes que constituem um grupo de promiscuidade sexual, possui uma maior incidência para doenças sexualmente transmissíveis (DST) (TAFURI & RASO, 1991; ZANINI, 1995), considerando que o risco de DST entre as mulheres está relacionado à infecção de seus parceiros (CODES *et al*, 2002).

Observou-se também neste estudo, um número baixo de mulheres que faziam uso de anticoncepcionais orais, que segundo SOBEL (1992) e CORRIGAN *et al* (1998),

aumentam o risco para a infecção vaginal, devido a um aumento dos níveis de estrogênio. Altas doses de estrogênio propiciam um aumento na concentração de glicogênio vaginal, com conseqüente acidificação do meio e proliferação da levedura (VAL & GUTEMBERG FILHO, 2001). No entanto, no presente estudo comparações para esta variável em relação à presença ou ausência da infecção por *Candida sp*, demonstraram resultados não significativos.

A literatura admite que as vulvovaginites, principalmente as formas persistentes ou recorrentes aumentam o risco de mulheres serem infectadas por HIV e outras doenças sexualmente transmissíveis e oferece um maior risco de transmissão para o parceiro sexual. O risco aumenta ainda mais se medidas de prevenção, como o uso de preservativo, não forem realizadas (BAGNOLI *et al*, 1994; LINHARES, 1999). Mulheres que nunca usaram preservativo apresentam um risco muito mais elevado de adquirir doenças sexualmente transmissíveis, do que aquelas que sempre ou na maioria das vezes os usam (CODES *et al*, 2002). Este estudo mostrou que das 129 mulheres em plena atividade sexual, apenas 48 (37,2%) faziam uso de preservativo, como mostra a figura 17. Observou-se assim que, a maioria das pacientes que não faziam uso de preservativo, apresentavam infecção por *Candida sp*, havendo uma tendência duas vezes maior dessas pacientes em adquirir esse tipo de infecção.

O diagnóstico da vulvovaginite é um dos mais freqüentes na prática diária do ginecologista e na maioria das vezes o diagnóstico e o tratamento não se constituem em um problema. A dificuldade se encontra nos episódios de recorrência. A literatura conceitua como vulvovaginite recorrente, a ocorrência de três ou mais sintomas desta infecção num período de um ano ou menos, acometendo pelo menos 5 a 10% das pacientes. Esta condição é problemática, podendo ocorrer devido ao tratamento inadequado, reinfecção e

pela presença de fatores predisponentes que cronificam o processo. A *Candida albicans* é o agente etiológico mais freqüentemente encontrado (BAGNOLI *et al*, 1994; LINHARES *et al*, 1994; GIRALDO *et al*, 1997). No presente estudo, observou-se uma freqüência alta (65,4%) de pacientes que declararam casos anteriores de infecção vulvovaginal e que no momento dos exames laboratoriais apresentaram vulvovaginite por *Candida sp*. Estes casos quando testados apresentaram resultados estatisticamente significantes (OR= 2,2 IC 95% 1,17 a 4,27)

Estima-se que a incidência de vaginite e vaginose em grávidas é bem maior do que em mulheres não grávidas (HALBE & SAKAMOTO, 1995; HALBE *et al*, 1996; SIMÕES, 1996). A patogenicidade da *Candida sp* está 30 % associada à gravidez por influencia dos estrógenos, que tem seus níveis mais elevados durante a gravidez. A microbiota vaginal normal é rica em lactobacilos produtores de peróxidos (bacilos de Doderlein), os quais formam ácido láctico a partir do glicogênio, cuja produção e secreção é estimulada pelos estrogênios. Esse mecanismo propicia uma acidez adequada (pH 4,5) do ambiente vaginal, dificultando a proliferação da maioria dos patógenos, com exceção do fungo do gênero *Candida*, que prolifera em ambiente ácido (DE LUCA, 1981; CORRIGAN *et al*, 1998; VAL & GUTEMBERG FILHO, 2001). O presente estudo não demonstrou resultados estatisticamente significantes em relação ao perfil hormonal das mulheres na amostra estudada, isto é, considerando apenas as fases do ciclo menstrual, pois não foi possível realizar dosagens hormonais.

Os fenótipos ABH e Lewis são determinados pela presença ou ausência de antígenos carboidráticos em glicolipídios e glicoproteínas encontrados na superfície das células epiteliais da mucosa e também nos eritrócitos. Entre os possíveis candidatos a receptores para *Candida* nas células epiteliais estão os antígenos de grupos sanguíneos

ABO e Lewis, os quais possuem resíduos de L-fucose (TOSH & DOUGLAS, 1992). Entretanto, o presente estudo não evidenciou uma associação estatisticamente significativa entre vulvovaginite causada por *Candida* e os fenótipos de grupos sanguíneos ABO e Lewis. Além disso, nenhuma diferença na proporção de secretores e não-secretores de substância ABH foi também observada entre o grupo controle e o grupo de pacientes.

Mulheres infectadas e não-infectadas por *Candida sp* tiveram distribuições similares para os fenótipos destes sistemas de grupos sanguíneos investigados (Tabela 7). Mas, considerando que a probabilidade estimada pelo teste estatístico para o sistema Lewis foi marginalmente significativa, é provável que um estudo com um maior número amostral possa indicar que a combinação de certos fenótipos de grupos sanguíneos Lewis confere um alto risco de mulheres adquirirem infecção vaginal. Por outro lado, investigações descritas na literatura empregando protocolos de cromatografia por afinidade e de purificação mostraram que preparações nativas (de extratos crus) de adesinas de 5 linhagens de *Candida albicans*, incluindo as linhagens de GDH 2346, todas contem proteínas tipo lectina capazes de ligar N-acetil-D-glucosamina e D-manose, bem como a L-fucose, sugerindo ainda a existência de um sistema secundário de adesão para as linhagens GDH 2346 envolvendo receptores contendo N-acetilglucosamina (TOSH & DOUGLAS, 1992).

Estes argumentos tendem a reforçar a idéia de que a interação predominante entre *Candida* e células epiteliais da mucosa vaginal poderia depender em particular do tipo de linhagens envolvidas nesta interação, e da capacidade para reconhecer entre os vários glicolipídeos com estruturas oligossacarídicas definidas, funcionando como receptores naturais destes microorganismos na mucosa do hospedeiro. Sendo assim, o fungo do gênero

Candida é geneticamente diverso, e estudos com diferentes cepas seriam necessários para determinar estas associações entre os fenótipos ABH, Lewis e candidíase.

Outro aspecto de relevante interesse neste contexto deve-se a grande complexidade dos fenótipos de grupos sanguíneos Lewis encontrados nas células normais do endométrio e endocervix. Variações na expressão destes antígenos é em parte devido as diferenças na constituição genética, histomorfologia, tipos celulares e níveis hormonais (RAVN, 1997; RAVN & DABELSTEEN, 2000). Estrógeno e progesterona são conhecidos por modular a expressão gênica e é possível que estes hormônios influenciem a transcrição de genes codificando glicosiltransferases envolvidas na biossíntese destes antígenos no endométrio humano. Assim, alterações na glicosilação podem ser uma parte da resposta biológica aos estímulos hormonais no endométrio (SALM 1962; SCHIMDT- MATTHIESEN, 1963). Desse modo, o conteúdo de carboidrato no endométrio flutua em relação ao ciclo menstrual e idade (Mc KAY *et al*, 1995).

Concordando com os trabalhos descritos na literatura para muitos outros tecidos (ØRNTOFT *et al*, 1988; MANDEL *et al*, 1991), os achados do presente estudo indicaram que, a expressão dos fenótipos Lewis na saliva e secreção vaginal difere daquela no eritrócito.

Diversos fatores podem explicar este achado de expressão tecidual diferenciada, responsável pela dissimilaridade observada entre eritrócito e secreções nos fenótipos Lewis. Sendo que a expressão de antígenos Lewis “inapropriada” pode ser devido a ação de outras fucosiltransferases do que aquelas codificadas pelos genes Le/Se (MACHER *et al*, 1991; YAZAWA *et al*, 1993; ORIOL *et al*, 1992). E ainda, mutações nos genes Lewis, originado

diferentes reduções na atividade enzimática tem sido associada com resultados discrepantes de fenótipos Lewis entre eritrócito/saliva (MOLLICONE *et al*, 1994).

Então, além da influencia genética no padrão de glicosilação, a expressão carboidrática pode ser modificada de várias formas. Conseqüentemente, a expressão ABH estaria correlacionada ao grau de proliferação (níveis de estrogênio) e ao ciclo menstrual (-/+ progesterona). Dados concernentes a atividade das fucosiltransferases envolvidas na biosíntese dos histoantígenos de grupos sanguíneos no endométrio e endocervix normal humano são escassos. Por outro lado, estudo no endométrio de camundongos mostra que o estrogênio estimula o aumento da atividade de ambas  $\alpha$ -1/2 fucosiltransferase (H/Se), favorecendo maiores níveis do substrato H e deste para antígenos ABH e Lewis, enquanto a progesterona atua inibindo a atividade  $\alpha$ -1/2 fucosiltransferase nas células epiteliais do endométrio (WHITE & KIMBER, 1994). É interessante mencionar que, entre as mulheres investigadas 17,5% (29/165) não sabiam informar a respeito do seu ciclo menstrual, porém em relação a outra parte das mulheres tínhamos 37,6 % (62/165) na fase lútea; 29,7% (49/165) na proliferativa; 9,7% (37/165) na ovulação e 5,4% (9/165) na menopausa.

Logo, padrões definidos de expressão são difíceis de obter, mas tanto contracepção hormonal como a gravidez tem sido associadas com a diminuição da expressão dos antígenos Lewis nas hemácias (ØRNITOF T *et al*, 1987; MANDEL *et al*, 1991)

Portanto, os achados do presente estudo, sugerem que a expressão variada dos antígenos Lewis nos eritrócito, muco vaginal e saliva dependem da influência de diversos fatores, como constituição genética, diferenciação tecidual e padrões hormonais, validando um elo de concordância com os dados observados na literatura. Outra possibilidade é que a infecção por *Candida sp*, aparentemente não seria responsável pela discrepância dos fenótipos Lewis entre eritrócito/muco vaginal.



## 5.0. CONCLUSÕES

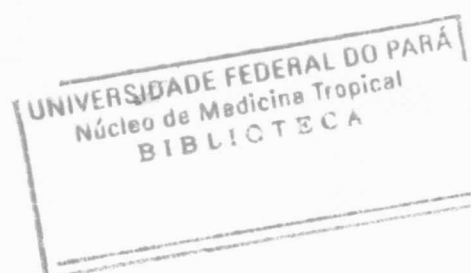
Considerando que a vulvovaginite seja um problema que afeta muitas mulheres e que exista uma possibilidade dos grupos sanguíneos ABH e Lewis serem possíveis receptores para o fungo do gênero *Candida*, concluímos que:

- 1 A prevalência da infecção por *Candida sp* em mulheres não –grávidas foi de 47,9%, a infecção por *Gardnerella vaginalis* foi de 6,1% e de infecção por *Candida sp* associada a outros microorganismos foi de 4,2%.
- 2 Os sintomas mais freqüentemente observados associados a infecção fúngica no canal vaginal foram corrimento, prurido, odor, ardência ao urinar e inflamação, e que mulheres com corrimento e prurido tinham um risco 3 x maior de desenvolverem infecção por *Candida sp*.
- 3 Mulheres com idade inferior a 40 anos, que não usavam preservativo e que já tiveram pelo menos um episódio anterior de infecção no canal vaginal causado por algum microorganismo, tem 75% de chance de contrair infecção por *Candida sp*.
- 4 Em relação às outras variáveis, vida sexual, uso de anticoncepcional e fase do ciclo hormonal, não foram observadas correlações com a infecção por *Candida sp*.
- 5 A infecção por *Candida sp* não estava associada com a expressão dos antígenos ABH e Lewis em mulheres não-grávidas na amostra estudada.
- 6 Em mulheres infectadas e não infectadas por *Candida sp*, os padrões de expressão dos fenótipos Lewis na saliva e secreção vaginal diferiram dos eritrócitos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABI-SAID, D; ANAISSIE, E; UZON, O; The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida sp.* **Clin Infect Dis.** v. 24, p. 1122-1128, 1994.
- ADAD, S.J; LIMA, R.V; SAWAN, Z.T.E. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp* and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. **São Paulo Med J.** v. 119, n. 6, p. 200-205, 2001.
- AINSWORTH, G.C. **Dictionary of Fungi.** 6 th. Ed. Kew Surrey. Common Wealth Mycological Institute, 1971
- ANDRADE, M.P; SCHONIN, G; FORCHE, A; ROSADO, L; COSTA, I; MULLER, M; PRESBER, W; MITCHELL, T.G; TIEIZ, H.J. Assesmente of genetic relatedness of vaginal isolates of *Candida albicans* from different geographical origins. **Int. J. Med. Microbiol.** v. 290, p. 97-104, 2000.
- ALKOUT, A.M. BLACKWELL, C.C., WEIR, D.M., POXTON, I.R., ELTON, R.A., LUMAN, W., PALMER, K. Isolation of a cell surface component of *Helicobacter pylori* that binds H type 2, Lewis<sup>a</sup>, and Lewis<sup>b</sup> antigens. **Gastroenterology.** v. 112, p. 1179-1187, 1997.
- AYRES, M; AYRES, M.J; AYRES, D.L; SANTOS, A.S; BioEstat 2.0- Aplicação estatística nas áreas de ciências biológicas e médicas. **Sociedade Civil Mamirauá MCT – CNPq**, 2000.
- AZZAM, W.M; CERMENÔ-VIVAS, J.R; ORELLÁN-GARCIA, Y; PENNA, S.J. Vulvovaginitis caused by *Candida spp* and *Trichomonas vaginalis* in sexually active women. **Invest clin.** v. 43, n.1, p. 3-13, 2002.
- BOWDEN, F.J & GARNETT, G.P. *Trichomonas vaginalis* epidemiology: parameterising and analyzing a model of treatment interventions. **Sex Transm Infect.** v. 76, p. 248-256, 2000.
- BAGNOLI, V.R; FONSECA, A M; LINHARES, I.M; HALBE, H.W; BARROS LEAL, J.M; MACHADO, L.E; MENKE, CH. Estudo da etiologia das vaginites e vaginoses. **RBM-Ginecologia e Obstetrícia.** v. 5, p. 464-466, 1994.
- CAMERON, B.J & DOUGLAS. Blood group glycolipids as epithelial cell receptors for *Candida albicans*. **Infection and Immunity.** v. 64, p. 891-896, 1996.
- CASADEVALL, A. Antibody Immunity and Invasive Fungal Infections. **Infect and Immunity.** v. 63, p. 4211-4218, 1995.



CLAUSEN, H; LEVERY, S.B; DABELSTEEN, E; HAKOMORI, S. Blood group ABH antigens: A new series of Blood Group A-associated structures ( Genetics regulation and tissue distribution ) . **Transplantation proceedings**. v. 19, p. 4408-4412, 1987.

CODES, J.S; COHEN, D.A; MELO, N.A; SANTOS, A.B; CODES, J.J.G; JOAQUIM JUNIOR, C.S; RIZZO, R. Detecção de doenças sexualmente transmissíveis em clínica de planejamento familiar da rede publica no Brasil. **RBGO**. v. 24, n. 2, p. 101-106, 2002.

COLOMBO, A.L. Candidíase hematogênica. **Manejo em infecções por *Candida***. São Paulo, 2000.

CORRIGAN, E.M; CLANCY, R.L; DUNKLEY, M.L; EYERS, F.M; BEAGLEY, K.W. Cellular immunity in recurrent vulvovaginal candidiasis. **Clin Exp Immunol**. v. 111, p. 574-578, 1998.

DE LUCA, L.A. **Ginecologia-Semiologia Clínica e Laboratorial**. São Paulo: Sarvier, 1981. p.15-20.

ESSERY, S.D; WEIR, D.M; JAMES, V.S; BLACKWELL, C.C; SAADI, A.T; BUSUTTIL, A; TZANAKAKI, G. Detection of microbial surface-antigens that bind Lewis (A) antigen. **FEMS Immun. Med.Micro**.v. 9, p. 15-21, 1994.

FERREIRA, A. W & ÁVILA, S.L.M. **Diagnostico Laboratorial das Principais doenças Infeciosas e Auto-Imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 246-250.

FIDEL, P.L.J & SOBEL, J.D. The role of cell-mediated immunity in candidiasis. **Trends in Microbiology**. v. 2, p. 202-206, 1994.

FIDEL, P.L.J; GINSBURG, K.A; CUTRGHT, J.L; WOLF, N.A; LEAMAN, D; DUNLAP, K; SOBEL, J.D. Vaginal- Associated Immunity in Women with Recurrent Vulvovaginal Candidiasis: Evidence for Vaginal Th1- Type Responses following Intravaginal Challenge with *Candida* Antigen. **The Journal Infect Diseases**. v. 176, p. 728-739, 1997.

FIORI, P.L; RAPPELLI, P; ADDIS, M.F. The flagellated parasite *Trichomonas vaginalis*: new insights into cytopathogenicity mechanisms. **Microbes and Infection**. v. 2, p. 149-156, 1999.

GIRALDO, P.C. Dificuldades na interpretação clínica das vulvovaginites. **Bol. Informe. Union**. v.19, p.12-17, 1994.

GIRALDO, P.C; RIBEIRO FILHO, A.D; SIMÕES, J.A; GOMES, F.A M; MAGALHÃES, J. Vulvovaginites-aspectos habitualmente não considerados. **J bras Ginec**. v. 107, p. 89-93, 1997.

HALBE, HW & SAKAMOTO, LC. Tratamento da Vaginose Bacteriana na gravidez e profilaxia do parto pré-maturo. **Sinopse de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 1, p 14, 1995.

HALBE, HW; CARVALHO, RV; SAKAMOTO, LC. Vaginite e vaginose. **Sinopse de Ginecologia e Obstetrícia**, v.1, p. 49, 1996

HENRY, S; ORIOL, R; SAMUELSSON, B. Lewis histo blood group system and associated secretory phenotypes. **Vox. Sang**, v. 69, p. 166-182, 1995.

HIGASHIDE, K; AMAM, R; YAMAMURO, O. Clinical characteristics correlated with different fungi. **Mycoses**. v. 31, p. 213-225, 1988.

HILTON, E; CHANTRASEKARA, V; RINDON, P; ISENBERG, H.D. Association of recurrent candidal vaginitis with inheritance of Lewis blood group antigens. **J. Infect. Dis.** v.173, p. 1616-1619, 1995.

HOBBS, M.M; KAZEMBE, P; REED, A. W; MILLER, W.C; NKATA, E; ZIMBA, D; DALY, C.C; CHAKRABORTY, H; COHEN, M.S; HOFFMAN, I. *Trichomonas vaginalis* is a cause of urethritis in Malawian. **Sex Transm Dis.** v. 26, p. 381-387, 1999.

JUNQUEIRA, L.C & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 367-388.

KENT, H.L. Epidemiology of vaginitis. **Amj Obstet Gynecol**, v.165, p.1168-1175, 1991.

KONEMAN, ALLEN, DOWEL, J.R, SOMMERS. Diagnóstico Microbiológico. **Texto e Atlas colorido**. 2. ed. São Paulo: Medsi Editora Médica Científica Ltda, 1993. p. 17-18.

KURMAN, J.R & SOLOMON, D. **O Sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal- OMS**, 1997.

LACAZ, C.S; PORTO, E; MARTINS, J.E.C. **Micologia Médica**. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 1991. p.216-240.

LE PENDU, J. A hypothesis on the dual significance of ABH, Lewis and related antigens. **Journal of Immunogenetics**, v.16, p.53-61, 1989.

LINHARES, I.M; BAGNOLI, V.R; HALBE, HW. Vaginose bacteriana, candidose e tricomoníase. **Tratado de ginecologia**. 2. ed. São Paulo: Roca Ltda, 1994. p.875.

LINHARES, I.M. Infecção vaginal aumenta o risco de as mulheres contraírem AIDS. 1999.

LOMBERG, H; CEDERGREN, B; LEFFLER, H; NILSSON, B; CARLSTROM, A.S; SVARNBORG-EDEN, C. Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic *E.coli*. **Infect Immun**, v.51, p. 919-926, 1986.

LOWE, J.B.H. Carbohydrate associated blood group antigens: the ABO, H/Se, and Lewis loci. **In: Garretty G, Immunobiology of transfusion medicine**. New York: Marcel Dekker, 1994. p.23.

LUCENA, A.L & BARBOSA, R.C. Incidência de *T. vaginalis*, *G. vaginalis* e Fungos em secreções de mulheres grávidas. **NewsLab**. v. 35, p.208-214, 1999.

MACHER, B.A; HOLMES, E.H; SWIEDLER, SJ; STULTIS, CLM. Human  $\alpha$ 1-3 fucosiltransferases. **Glycobiol**. v 1, p. 577-584, 1991.

MACKEE, G.T. **Citopatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 48-52.

MAKINI, S; DALIX, A.M; CAILLARD, T; COMPAGNON, B; LE PENDU, J; AYED, K; ORIOL, R. Discordance between red cell and saliva Lewis phenotypes in patients with hydatidic cysts. **Expl.Clin.Immunogenet**, v.4, p.136-143, 1987.

MANDEL, U; PETERSEN, O.W; SORESEN,H; VEDTOFT, P; CLAUSEN, H. Simple mucin type carbohydrates in oral stratified squamous and salivary gland epithelia. **J Invest Dermatol**. v 97, p. 713-21, 1991.

MAY, S.J.; BLACKWELL; WEIR, D.M. Lewis<sup>a</sup> blood group antigen of non – secretors: a receptor for *Candida* blastospores. **FEMS Microbiol. Immunol**. v.47, p. 407-410, 1989

Mc KAY, DG; HERTIG, A.T; BARDAWIL, W.A; VERLADO, J.T. Histochemical observations on the endometrium I.Normal endometrium. **Obstet Gynecol**. v 8, p. 140-56, 1995.

MOLLICONE, R; REGUIGNE, I; KELLY, RJ; FLETCHER, A. Molecular basis for Lewis  $\alpha$ (1,3/1,4)fucosyltransferase gene deficiency (FUT 3) found in Lewis negative indonesian pedigrees. **J Biol Chem**. v 269, p. 20987-94, 1994.

MURRAY, P.R; DREW, W.L; ROBAYASHI, G.S; THOMPSON, J.J.R. **Microbiologia Medica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p.246.

MURTA, E.F.C; SOUZA, M.A.H; JUNIOR, E.A; ADAD, S.J. Incidence de *Gardinerella vaginalis* and *Candida sp* and human papilloma vírus in cytological smears. **Revista Paulista de Medicina**, v.118: p.105-108, 2000.

NASCIMENTO, R.C; SANTOS, S.I.S; MARIA, A. Prevalência das espécies do gênero *Cândida* em pacientes usuárias de um ambulatório de ginecologia municipal de Taubaté. **Revista de biociências**, v.5, p. 25-30, 1999.

NAZÁRIO. A.C.P; BARACAT, E.C; LIMA, G.R.L. Candidíase vulvovaginal- Aspectos terapêuticos atuais. **SOGESP**, 1998.

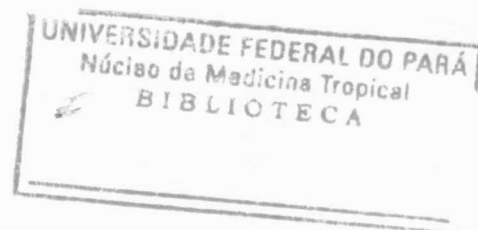
NEVES, D.P; MELO, A.L; GENARO, O; LINARDI, P.M. **Parasitologia humana**. 9. ed. Belo Horizonte: Atheneu, 1995. p.116.

ORIOL, R; PENDU, J.L; MOLLICONE, R. Genetics of ABO ,H , Lewis , X and related antigens. **Vox Sang**, v5, p.161-171, 1986.

- ORIOLO, R; MOLLICONE, R; COULLIN, P; DALIX, AM. Genetics regulation of the expression of ABH and Lewis antigens in tissues. **APMIS**. v 100, p. 28-38, 1992.
- OTERO, L; PALACIO, V; CARRENO, F; MENDES, F.J; VAZQUEZ, F. Vulvovaginal candidiasis in female sex workers. **Inter. Jour. STD, AIDS**, v.9, p. 526-530, 1998.
- ØRNITOFT, T.F; WOLF H; CLAUSEN, H; HAKOMORI, S. Blood group ABO and Lewis antigens in fetal and normal adult bladder urothelium: Immunohistochemical study of type I chain structures. **J Urol**. v 138, p. 171-76, 1987.
- ØRNITOFT, T.F; WOLF H; CLAUSEN, H. Blood group ABO and antigens Lewis in bladder tumours: correlation between glicosiltransferase activity and antigen expression. **APMIS**. v 4, p. 126-33, 1988.
- ØRNITOFT, T.F; HOLMES, E.H; JOHNSON, P; HAKOMORI, S.I; CLAUSEN, H. Differential tissue expression of the Lewis blood group antigens: Enzimetic immunohistologic and immunochemical evidence for Lewis antigen expression in Le(a-b-) individuals. **Blood**, v.77, p.1389-1396, 1991.
- PFLUG, W; BASSLER, G; EBERSPÄCHE, B. ABO and Lewis typing of secretion stains on Nitrocellulose membranes using a New Dot-Blot-Elisa. **Technique Forensic Science International**, v.43, p. 171-182, 1989.
- PUC CETTI, P; ROMANI, L; BISTONI, F. A TH1-TH2-like switch in candidiasis: new perspectives for therapy. **Trends in Microbiology**, v. 3, p. 237-240, 1995.
- PYBUS, V & ONDERDONK, A. B. Microbial interactions in the vaginal ecosystem, with emphasis on the pathogenesis of bacterial vaginosis. **Microbes and infection**, v. 1, p. 285-292, 1999.
- RAVNI, VS. ABH e related histo bloodgroup antigens in normal malignant human endometrium in relation to genetic and hormonal factors. **APMS**. v 105, p. 5-33, 1997.
- RAVNI & DALBESTEEN. Tissue distribution of histo-blood group antigens. **APMS**. v 108, p. 1- 28, 2000.
- REED, B.D. Risk factors for *Candida* vulvovaginitis. **Sur Gynecol Obstet**, v. 47, p. 551-560, 1992.
- REED, B.D & EYLER, A. Vginal Infections: Diagnosis and Management. **Am Fam Physician**. v. 47, p. 1805-1816, 1993.
- ROBBINS, S.L; KUMAR,V; COTRAN, R.S. **Patologia estrutural e funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.929-931.
- ROBBINS, S.L; KUMAR,V; COTRAN, R.S. **Patologia estrutural e funcional**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 319-320.

- SALM, R. Mucin production of normal and abnormal endometrium. **Arch Pathol.** v 13, p. 42-51, 1962.
- SÁNCHEZ-VEGA, J.T. Frecuencia de trichomoniasis y candidiasis vaginal y su relación con el cuadro clínico. **Rev. Latinam. Microbiol.** v.35, p. 211-216, 1993.
- SCHAEFFER, A.J; NAVAS, E.L; VENEGAS, M.F; ANDERSON, B.E; KANERVA, C.K; CHMEL, J.S; DUNCAN, J.L. Variation of blood group antigen expression on vaginal cells and mucus in secretor e nonsecretor women. **The Journal of Urology.** v. 91, p. 859-864, 1994.
- SCHMIDT-MATTHIESEN, H. Histochemische studiem am secretendometriedrusen. **Acta Histochem.** v 16, p. 28-45, 1963.
- SCHONITZER, D. Relationship of blood groups to disease. **Biol. Hematol. Hemat. Suppl. Special.** v. 1, p. 67-68, 1997.
- SENET, J.M. Fungal cell. Adesion molecular in *Candida albicans*. **Euro. Jour. Epidem.** v. 7, p. 23-33, 1991.
- SHEINFIELD, J; SCHAEFFER, A.J; CORDON-CARDO, C; ROGATKO, A; FAIR, W.H. The association of the Lewis blood group phenotype with recurrent urinary infections in women. **N. Engl. J Med.** v. 320, p. 773-777, 1989.
- SILVA, M.C.S. Candidiasis - Aspecto moleculares gerais. **NewsLab,** v. 35, p. 154-156, 1999.
- SIMÕES, J.A; GIRALDO, P.C; RIBEIRO FILHO, A; FAUDES, A. Prevalência e fatores de risco associados a infecção Cérvico Vaginal durante a gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia.** v.18, n. 6, p. 459-467, 1996.
- SOBEL, J.D. Vaginal infection in adult women. **Med Clin North Am.** v. 74, p. 1573-1602, 1990.
- SOBEL, J. D. Pathogenesis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. **Clin. Inf. Dis.** v. 14, p. 148-153, 1992.
- SOBEL, J.D; FARO, S; FORCE, RW. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutc considerations. **Am J Obstet Gynecol.** v. 178, p. 203-211, 1998.
- SPINILLO, A; CARRATA, L; PIZZOLI, G. Recurrent vaginal candidiasis. Results of a cohort study of sexual transmission and intestinal reservoir. **J Repro Med.** v. 37, p. 343-347, 1992.
- SPINILLO, A. *Torulopsis glabrata* vaginitis. **Obstet. gynecol.** v. 85, p. 993-998, 1995.

- STAPLETON, A; NUDELMAN, E; CLAUSEN; HAKOMORI, S; STAM, W.E. Binding of uropathogenic *E.coli* R-45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood groups secretor status. **J. Clin. Invest**, v. 90, p. 965, 1992.
- STEVENS, A & LOWE, J. **Histologia**. São Paulo: Manole Ltda, 1995. p. 322-339.
- SZULMAM A E. The ABH Blood Groups and developmental Biology. **Academic press New York**, v. 14, p. 127, 1980.
- TAFURI, W.L. & RASO, P. Ocorrência de *Trichomonas vaginalis* em 100.000 exames citopatológico cérvico vaginal diagnosticado entre os anos de 1984 e 1989, em Belo Horizonte, Minas Gerais. **J. Bras. Ginecol**. v.101, n. 11.12, p. 519 - 522, 1991.
- TOSH, F.D & DOUGLAS, L.J. Characterization of a Fucoside-Binding Adhesion of *Candida albicans*. **Infection and Immunity**, v. 60, p. 4734-4739, 1992.
- TRABULSI, L.R. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1991. p. 285-286.
- VAL, I.C & GUTEMBERG FILHO, L.A. Abordagem atual da candidíase vulvovaginal. Editorial. DST-J bras Doenças Sex Transm. v. 13, n. 4, p. 3-5, 2001.
- VAN DER SCHEE, C; SLUITERS, H.J.F; VAN DER MEIJDEN, W.I; VAN BEEK, P; PEERBOOMS, P; VERBRUGH, H; VAN BELKUM, A. Host and pathogen interaction during vaginal infection by *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma hominis* or *Ureaplasma urealyticum*. **Jounal of Microbiological Methods**. v. 45, p. 61-67, 2001.
- WANKE, B. & LAZÉRA, M.S. Micoses Sistêmicas e Micoses Oportunisticas. **Micologia Médica - FIOCRUZ**, v. 2, p. 31-33, 2002.
- WATKINS, W.M & GREENWELL, P. Biosynthesis of blood group ABH antigens: Genetic regulation and tissue distribution. **Transplantation proceedings**, v. 19, p. 4413-4415, 1987.
- WATKINS, W.M; GREENWELL, P; YATES, A.D; JOHNSON, P.H. Regulation of Expression of Carbohydrate Blood Group Antigens. **Biochime**. v. 70, p. 1597-1611, 1988.
- WHITE S & KIMBER, SJ. Changes  $\alpha$ 1-2 fucosyltransferase activity in the murine epithelial endometrium during the estrous cycle, early pregnancy, and after ovariectomy and hormone replacement. **Biol Reprod**. v 50, 73-81, 1994.
- YAZAWA, S; NAKAMURA, JI; ASAO, T. Aberrant  $\alpha$ 1-2 fucosyltransferases found in human colorectal carcinoma involved in the acumulation of Leb and Y antigens in colorectal tumors. **Jpn J Cancer Res**. v 84, p. 989-995, 1993.
- ZANINI - KOSLINSKI, R.M. Vaginose bacteriana. **Feminina** v. 23, n. 3, p. 213-219, 1995.



ANEXOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE GENÉTICA

TERMO DE COMPROMISSO LIVRE ESCOLA

Este termo de compromisso livre escola é celebrado entre a Universidade Federal do Rio de Janeiro, através do Instituto de Genética, e o(a) aluno(a) abaixo assinado(a), para a realização de uma pesquisa científica, conforme se segue:

1. O(a) aluno(a) declara que é maior de idade e que não está sob tutela ou interdição judicial, e que é capaz de assumir a responsabilidade por suas ações e omissões. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

2. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

3. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

4. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

5. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

6. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

7. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

8. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

9. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. O(a) aluno(a) declara que não está sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Declaro que sou maior de idade e que não estou sob tutela ou interdição judicial, e que sou capaz de assumir a responsabilidade por minhas ações e omissões. Declaro que não estou sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. Declaro que não estou sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas. Declaro que não estou sob qualquer tipo de restrição legal para a realização de pesquisas científicas.

Assinatura do(a) Aluno(a): \_\_\_\_\_

ASSINATURA DO PACIENTE

Este termo de compromisso livre escola é celebrado entre a Universidade Federal do Rio de Janeiro, através do Instituto de Genética, e o(a) paciente abaixo assinado(a), para a realização de uma pesquisa científica, conforme se segue:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**PROJETO:** Avaliação do estado secretor ABH e Lewis em mulheres com e sem risco de desenvolver vulvovaginite por *Cândida* sp. na cidade de Belém-Pará.

Esta pesquisa tem como principal objetivo estudar a prevalência do agente infeccioso do gênero *Candida*, tentar estabelecer uma relação dos antígenos dos grupos sanguíneos ABH e Lewis com a infecção. Em virtude do seu médico suspeitar que você esteja com infecção por *Cândida*, você será submetido a um exame para coleta de uma pequena amostra do mucus vaginal, sangue e saliva, além de responder a um questionário sobre as possíveis causas do problema, necessária para dar certeza do diagnóstico, e conseqüentemente, o tratamento adequado para esta infecção. Com essa finalidade prestamos os seguintes esclarecimentos:

1-Serão realizados exames de sangue, saliva e muco vaginal para pesquisar o grupo sanguíneo ABH e Lewis.

2-É necessário responder ao questionário epidemiológico, para maiores informações sobre a pessoa que participa da pesquisa.

3-Os exames realizados serão gratuitos, não necessitando nenhum custo por parte do participante para a sua realização.

4-Você será beneficiado com a orientação para o tratamento de sua infecção, e acompanhamento médico.

5- Os resultados dos exames serão usados como dados da pesquisa, omitindo-se a identidade do participante.

6- O material coletado será usado devidamente para este fim, assim como o questionário e, após o término da pesquisa, e o resto do material biológico será descartado.

7- A pesquisa não oferece risco para que participa e a coleta de sangue e do muco vaginal será realizada por um profissional treinado.

8-Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como poderá se retirar dela no momento que desejar, sem qualquer prejuízo pessoal.

Solicitamos assim, a sua autorização para efetuarmos o referido exame e realizarmos uma entrevista, sendo que a mesma é confidencial; para desenvolvermos a pesquisa sobre a infecção da qual você é portador.

**CONSENTIMENTO**

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo do mesmo, assim como seus benefícios. Declaro ainda que por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
ASSINATURA DO PACIENTE

Coordenador do Projeto: Eliel Nina de Azevedo, Dr - UFPA - (91) 2111558

Endereço do Pesquisador Responsável: Av. Augusto Correa S/N - Campus Universitário - Centro de Ciências Biológicas - Departamento de Genética - Tel (91) 2111558(R-27) - Fax (91)2111627.

Por favor, pergunte a equipe de estudo a respeito de quaisquer palavra ou informações que você não entenda claramente neste termo de esclarecimento.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO DE GENÉTICA**  
**LABORATÓRIO DE IMUNOGENÉTICA**

**NOME :** \_\_\_\_\_ **IDADE :** \_\_\_\_\_

**NATURALIDADE :** \_\_\_\_\_

**PROFISSÃO:** \_\_\_\_\_

**ESTADO CIVIL** ( ) SOLTEIRA ( ) CASADA

**COR:** \_\_\_\_\_

**ESCOLARIDADE:** \_\_\_\_\_

**RESIDÊNCIA** TEM SANEAMENTO ( ) SIM ( ) NÃO  
TEM BANHEIRO DE ALVENARIA ( ) SIM ( ) NÃO

**COMPORTAMENTO SEXUAL :** PARCEIRO FIXO ( ) SIM ( ) NÃO  
FAZ USO DE PRESERVATIVO ( ) SIM ( ) NÃO  
FORA ORIENTADA SOBRE DST ( ) SIM ( ) NÃO

**ANTECEDENTES PESSOAIS :**

PACIENTE DIABÉTICO( ) SIM ( ) NÃO

FAZ USO DE MEDICAÇÃO ( ) SIM ( ) NÃO QUAIS \_\_\_\_\_

JÁ TEVE CASOS DE VAGINITE E/OU INFECÇÃO URINÁRIA ( ) SIM ( ) NÃO

DATA DA ULTIMA MENSTRUACÃO \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

IDADE DA MENARCA : \_\_\_\_\_

POSSUI ALGUM DISTURBIO HORMONAL(Atrasos no ciclo):( ) SIM ( ) NÃO

MENOPAUSA : ( ) SIM ( ) NÃO

GRAVIDEZ : ( ) SIM ( ) NÃO QUANTAS : \_\_\_\_\_

GRUPO SANGUÍNEO ( ) SIM ( ) NÃO QUAL: \_\_\_\_\_

**SINAIS E SINTOMAS :**

CORRIMENTO ( ) SIM ( ) NÃO

POSSUI MAL CHEIRO ( ) SIM ( ) NÃO

HÁ VERMELHIDÃO NOS ORGÃOS SEXUAIS ( ) SIM ( ) NÃO

COCEIRA NOS ORGÃOS SEXUAIS ( ) SIM ( ) NÃO

ARDÊNCIA AO URINAR ( ) SIM ( ) NÃO

MANCHAS ( ) SIM ( ) NÃO

