

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ALICIA MARIA DA SILVA SOUSA

**DETECCÃO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL POR REAÇÃO EM
CADEIA DA POLIMERASE (PCR): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Juazeiro do Norte – CE
2022

ALICIA MARIA DA SILVA SOUSA

DETECÇÃO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL POR REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso - Artigo Científico, apresentado à Coordenação do curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Me. Cícero Roberto Nascimento Saraiva

Coorientadora: Thamires Dalvina Silva Santos

ALICIA MARIA DA SILVA SOUSA

DETECÇÃO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL POR REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso - Artigo Científico, apresentado à Coordenação do curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Me. Cícero Roberto Nascimento Saraiva

Coorientadora: Thamires Dalvina Silva Santos

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Orientador

Prof.^a Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro **Examinador 1**

Prof.^a Ma. Rakel Olinda Macedo da Silva
Examinador

DETECÇÃO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL POR REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Alicia Maria da Silva Sousa¹; Cicero Roberto Nascimento Saraiva².

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo relatar, através de uma revisão sistemática da literatura, a detecção da Candidíase vulvovaginal (CCV) por uma reação em cadeia de polimerase (PCR). O estudo é caracterizado como revisão sistemática da literatura, realizada através das bases de dados National Library Of Medicine (Pubmed) e Biblioteca virtual em saúde (BVS), utilizando os seguintes descritores: “polymerase chain reaction”, “candidiasis”, “*Candida albicans*” e “vulvovaginal” com o uso do boleador “AND” entre eles, com o objetivo de selecionar publicações que abordem a aplicação da técnica de PCR para o diagnóstico de candidíase vulvovaginal. De acordo com os resultados dos artigos científicos, o tema se mostra promissor como uma metodologia a ser aplicada para o diagnóstico de candidíase vulvovaginal. O método diagnóstico de PCR é mais sensível que a cultura na detecção de espécies de *Candida*, portanto é uma maneira mais sensível de detectar esse fungo em comparação com a cultura. Portanto, sugere-se que a técnica de PCR seja aplicada com mais frequência, para a confirmação dos diagnósticos de CVV, afim diferenciar as espécies causadoras da mesma, bem como contribuir para um melhor tratamento e estudos epidemiológicos acerca do tema.

Palavras chave: Candidíase. Diagnóstico. Reação em Cadeia de Polimerase.

DETECTION OF VULVOVAGINAL CANDIDIASIS BY POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR): A SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT

The present study aimed to report, through a systematic review of the literature, the detection of vulvovaginal candidiasis (VCC) by a polymerase chain reaction (PCR). The study is characterized as a systematic literature review, carried out through the National Library Of Medicine (Pubmed) and Virtual Health Library (BVS) databases, using the following descriptors: “polymerase chain reaction”, “candidiasis”, “*Candida albicans*” and “vulvovaginal” using the “AND” filler between them, with the aim of selecting publications that address the application of the PCR technique for the diagnosis of vulvovaginal candidiasis. According to the results of scientific articles, the topic is promising as a methodology to be applied for the diagnosis of vulvovaginal candidiasis. The diagnostic method of PCR is more sensitive than culture in detecting *Candida* species, so it is a more sensitive way to detect this fungus compared to culture. Therefore, it is suggested that the PCR technique be applied more frequently, for the confirmation of VVC diagnoses, in order to differentiate the species that cause it, as well as to contribute to a better treatment and epidemiological studies on the subject.

Keywords: Candidiasis. Diagnosis. Polymerase Chain Reaction.

1 INTRODUÇÃO

A Candidíase Vulvovaginal (CCV) é ocasionada por espécies do gênero *Candida* sp, a mesma está presente na flora vaginal das mulheres, contudo alguns fatores podem alterar essa flora causando uma infecção. A CVV ocorre principalmente devido a hábitos de higiene inadequados, uso de roupas sintéticas, climas quentes e úmidos, alterações hormonais, alimentação inadequada, uso de duchas higiênicas, tratamento com antibióticos e outros medicamentos que alteram a flora normal da vagina (GONÇALVES, 2017).

O principal agente das candidíases é *C. albicans*. Como o organismo causador é quase sempre endógeno, a doença é considerada uma infecção oportunista. No entanto, existem outros agentes da candidíase, como por exemplo: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. viswanathii*, *C. famata*, dentre outras, sendo que todas estas espécies têm sido isoladas de casos clínicos (CHAVES, 2003). Milhões de mulheres desenvolvem CVV no ano e 70 a 75% das mulheres em idade reprodutiva apresentam pelo menos um episódio agudo de candidíase durante a vida (BLOSTEIN, 2017).

As manifestações clínicas de pacientes com CVV incluem corrimento grumoso de cor branco, acompanhado de prurido que pode ocasionar fissuras e manifestação de odor, ardor ao urinar, eritemas, dispareunia e desconforto vaginal. A candidíase vulvovaginal é usualmente tratada com derivados imidazólicos tópicos ou sistêmicos (ZIARRUSTA, 2002).

É observado que tem aumentado o surgimento de infecções ocasionadas por espécies de *Candida* com maior resistência aos antifúngicos mais comuns, por tanto é de suma importância identificar adequadamente a espécie de *Candida*, bem como detectar seus genes de resistência para que o tratamento seja realizado de forma eficaz. A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é capaz de detectar as diferentes espécies desse fungo e tem como princípio a síntese de ácidos nucleicos a partir da replicação de um segmento específico de DNA, baseando-se na amplificação específica de segmentos de DNA-alvo, apresentando potencial para detecção de níveis baixos de infecção em células e tecidos, ainda que a detecção esteja sendo feita em infecções não produtivas (RODRIGUES et al., 2009).

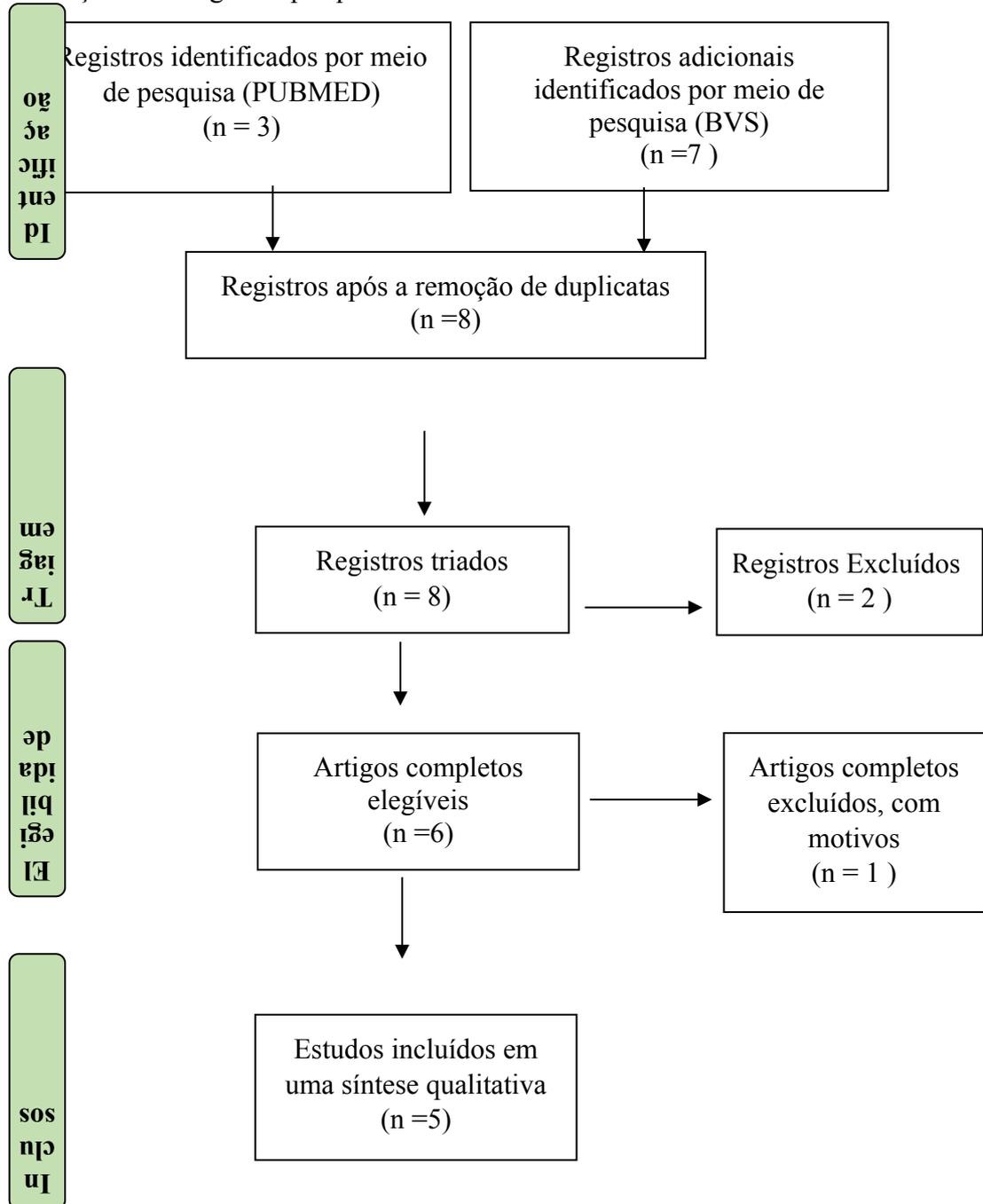
Com isso, o presente estudo torna-se importante para complementar a literatura já existente a respeito do tema e compreender o mecanismo dessa patologia e como é realizado o seu diagnóstico através de testes de Biologia Molecular, de forma específica a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Tratou-se de um estudo do tipo revisão sistemática da literatura, realizada no segundo semestre de 2021 e primeiro semestre de 2022. A coleta dos dados foi realizada através das bases de dados National Library Of Medicine (Pubmed) e Biblioteca virtual em saúde (BVS), utilizando os seguintes descritores: “polymerase chain reaction”, “candidiasis”, “*Candida albicans*” e “vulvovaginal” com o uso do bofeador “AND” entre eles, com o objetivo de selecionar publicações que abordem a aplicação da técnica de PCR para o diagnóstico de candidíase vulvovaginal.

Para a construção do desenvolvimento do presente trabalho, esse tópico foi subdividido em duas partes: A primeira parte geral, relatando os aspectos gerais da candidíase e da técnica de PCR; e a segunda parte, sendo específica onde buscou artigos que correlacionassem diretamente a Técnica de PCR para o diagnóstico de Candidíase, sendo esse o ponto principal e o foco da atual pesquisa.

Para a construção da Parte II do desenvolvimento, foram incluídos no estudo artigos publicados entre os anos de 2001 e 2021, nos idiomas: Inglês, Português e Espanhol. Os artigos continham as palavras “polymerase chain reaction”, “candidiasis”, “*Candida albicans*” e “vulvovaginal” no título, resumo ou assunto. Foram excluídos artigos duplicados, bem como aqueles que se caracterizarem por outras revisões de literatura. Além disso, foram excluídos os artigos que, mediante leitura do título e do resumo, evidenciarem que não abordam a aplicação da técnica de PCR para o diagnóstico de candidíase vulvovaginal.

Figura 1: Seleção dos artigos de pesquisa nas bases de dados.



Ante o exposto, o presente artigo teve por objetivo relatar, através de uma revisão sistemática da literatura, a detecção da Candidíase vulvovaginal (CCV) por uma reação em cadeia de polimerase (PCR).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 PARTE I: ASPECTOS GERAIS DA CANDIDÍASE E DA TÉCNICA DE PCR

O gênero *Candida* é constituído por leveduras, que podem estar presentes na microbiota normal da vagina da mulher, em outras regiões do corpo humano e em animais. No entanto, podem se proliferar de forma acentuada, causando um desequilíbrio na região, entre o parasita e o hospedeiro podendo ocasionar a Candidíase vulvovaginal e outras doenças. A CVV é uma doença comum em mulheres de todo o mundo e é causada pelo crescimento exacerbado de leveduras do tipo *Candida*, principalmente pela *Candida albicans*. É uma doença caracterizada por sinais e sintomas de inflamação na vulva e vagina (SALVATORI et al., 2016, RAUGUST; DUARTE, 2013).

O principal grupo de leveduras responsável por causar infecções oportunistas em humanos é da espécie *Candida*, a mesma coloniza principalmente as superfícies mucosas do trato gastrointestinal e urogenital, sem causar danos à saúde do indivíduo saudável. Contudo, se houver alterações na microbiota, como exemplo o crescimento anormal de leveduras naquele local, ou comprometimento na imunidade do indivíduo, as leveduras tornam-se patogênicas se manifestando de forma prejudicial e agressiva no local da infecção (BEAHMNAESH, et al., 2015; FELIX et al., 2017).

A alta reiteração da espécie *Candida albicans* está relacionada à sua forte capacidade de se aderir às células do hospedeiro possibilitando a expressão de enzimas hidrolíticas tendo assim um maior poder de ocasionar lesões teciduais (BIGNOUMBA et al., 2019).

A Candidíase tem sido um dos diagnósticos mais frequentes no exercício em ginecologia e sua ocorrência tem aumentado bastante, tornando-se a segunda infecção genital mais frequente nos Estados Unidos e no Brasil. É possível estimar que 75% das mulheres adultas apresentam a manifestação da CVV pelo menos uma vez, ao longo de suas vidas.

Estima-se que destas, 40% a 50% irão apresentar novos surtos e 5% vão atingir o caráter recorrente (CVVR) definida por mais de quatro casos de episódios de infecção no ano (MARDH et al., 2002).

Numerosos estudos indicam que a *Candida albicans* ocorre com mais frequência do que espécies não *C. albicans* correspondente à 80% a 90% dos casos (MARTENS, HOFFMAN, EL- ZAATARI, 2004).

As mulheres adultas e de idade fértil são as mais atingidas pelo aparecimento da candidíase vulvovaginal, as lesões apresentam-se cremosas, planas e brancas, corrimento vaginal (leucorreia), prurido, edema, dispareunia, disúria, alteração do pH vaginal e hiperemia, são sintomas sugestivos da CVV. O corrimento geralmente descrito como “leite coalhado” pode variar, ou pode ser em quantidade bem discreta, esse corrimento pode ser acompanhado de coceira na região da entrada da vagina, podendo se espalhar para a virilha e região anal (SANTI; RIZZI 2011).

São muitos os fatores que contribuem para o aparecimento de infecções fúngicas, dentre eles estão: disfunção dos neutrófilos, defeito na imunidade mediada por células, rompimento das barreiras cutânea e mucosa, desordens metabólicas (pacientes diabéticos por exemplo), longo tratamento com antibióticos, dentre outros (PFALLER et al., 2007).

Tem sido observado um aumento na incidência de infecções fúngicas causadas por espécies de *Candida* em pacientes imunocomprometidos. Dentre esses pacientes estão os transplantados e os HIV positivos, devido as infecções graves que acometem o organismo, causando o surgimento de micoses, ocasionado por fungos oportunistas, como exemplo a *Candida* sp. (SANTOS et al., 2018).

O tratamento mais adequado vai ficar a critério do médico, dependendo do quadro clínico do paciente, e particularidade de cada caso. Alguns antifúngicos são mais utilizados para o tratamento da CVV, dentre eles destacam-se a classe dos azóis, que inclui os imidazóis (butoconazol, miconazol, clotrimazol e cetoconazol) e triazóis (fluconazol e terconazol) esses medicamentos inibem a ação da produção de ergosterol presente na célula do fungo e a classe dos polienos (anfotericina B e nistatina), que alteram a permeabilidade da membrana celular fúngica (COSTA et al, 2007).

Métodos rápidos, como exame a fresco e coloração de Gram são utilizados para identificação das leveduras presentes nas secreções vaginais, esses métodos auxiliam clínico a excluir vaginites ocasionadas por protozoários e bactérias (COSTA et al, 2007).

No exame a fresco de conteúdo vaginal é retirado das paredes laterais da vagina, com o auxílio da espátula de Ayre ou swab, deposita em lâmina e mistura com uma ou duas gotas de solução fisiológica e coberta com lamínula. São adicionadas duas gotas de KOH a 10% na secreção vaginal, que vai destruir os elementos celulares, proporcionando uma melhor visualização da lâmina (FEURSCHUETTE et al., 2010).

Perante a diversidade e das manifestações clínicas que as infecções por *Candida* spp. podem manifestar, é essencial a utilização de diferentes métodos diagnósticos. Os testes cromogênicos, como CHROMagar® *Candida*; o antibiograma que é um método quantitativo, e a reação em cadeia da polimerase (PCR) são métodos clinicamente fundamentais, visto que fornecem resultados rápidos, altamente específicos e auxiliam também na indicação antifúngica e na monitoração dos padrões que existem na amostra (AHMAD; PFALLER; 2002; TORTORANO et al., 2006).

As técnicas de biologia molecular são amplamente utilizadas, não apenas no diagnóstico de morbidades, como também nas atividades de pesquisa e medicina forense. O sucesso da utilização de material genético de vírus, bactérias e outros patógenos, na investigação clínica de patologias está diretamente relacionado à qualidade do material genético extraído, que podem estar presentes, mas em um baixo número de cópias (DINGUELESKI et al. 2017).

A PCR baseia-se na amplificação específica de segmentos do DNA alvo e tem potencial para a detecção de níveis muito baixos de carga em células e tecidos, mesmo em infecções ditas não produtivas, além de permitir à amplificação em larga escala de DNA e RNA, sendo uma metodologia amplamente difundida, tendo como vantagem a alta sensibilidade com a capacidade de detectar pelo menos uma cópia do genoma viral por célula (IFTNER et al., 2009).

Primeiramente, deve-se proceder à extração do material genético a ser utilizado. Depois de extraído o DNA, adiciona-se a ele uma mistura (pré-mix) que contém os desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dATP, dCPT, dGTP, dTTP), os primers (iniciadores ou oligonucleotídeos), a enzima DNA polimerase e uma solução tampão. Toda essa mistura é

encaminhada ao termociclador, que faz ciclos de temperatura preestabelecidos com tempos exatos específicos para cada etapa da reação (SILVA et al., 2017).

Os ciclos da PCR são constituídos de 3 etapas, começando pelo aumento de temperatura, iniciando a etapa de desnaturação, que rompe as pontes de hidrogênio das fitas de DNA, tornando-as fitas simples. Na 2ª etapa ocorre a redução de temperatura e em seguida a hibridização, os iniciadores vão se ligar as fitas, para que na 3ª etapa do ciclo a DNA polimerase produza uma nova fita, a partir dos iniciadores e da fita antiga, etapa conhecida como extensão (CALEFFE et al., 2016). O resultado do PCR é visualizado como uma banda de peso molecular específico para o fragmento de DNA amplificado através da eletroforese em gel de agarose ou de poliacrilamida, mediante coloração com brometo de etídio e/ou outros intercalantes de ácidos nucleicos não mutagênicos como Sybr Green, Blue Green dye, Safer dye, entre outros (FASAEI; TAMAI, 2017).

2.2 PARTE II: DETECÇÃO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL POR PCR

Diante dos achados, um artigo foi publicado em 2002 (20%), um de 2009 (20%), um de 2012 (20%) um 2016 (20%) e outro 2017 (20%).

Baseado na tabela 1, foi possível observar que o critério de elegibilidade dos artigos selecionados para os estudos, em sua maioria, era que tivessem como objetivo descrever a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) bem como o diagnóstico da candidíase vulvovaginal.

Tabela 1 – Características dos artigos científicos quanto aos seus respectivos objetivos.

	AUTOR	OBJETIVO
1	AHMAD et al., 2002	Avaliar diferentes métodos diagnósticos de determinação de espécies de <i>Candida</i> e caracterizar, entre as espécies identificadas, o padrão de sensibilidade aos diferentes antifúngicos.
2	WEISSENBACHER et al., 2009	Determinar a sensibilidade da detecção de espécies de <i>Candida</i> por cultura e reação em cadeia da polimerase (PCR) em mulheres com diagnóstico clínico de VVC.
3	MAHMOUDI et al.,	Identificar as espécies de isolados vaginais de <i>Candida</i> por

	2012	meio da técnica de PCR multiplex.
4	CALEFFE et al., 2016	Fornecer informações sobre os métodos e aplicações da clonagem gênica.
5	TARDIF et al., 2017	Detectar e diferenciar espécies de <i>Candida</i> causadoras de candidíase vulvovaginal, através da PCR.

Fonte: BVS e NCBI, 2022.

De acordo com os estudos citados na tabela 2 quanto aos principais resultados, observa-se que técnica de PCR é extremamente precisa ao diagnóstico de candidíase e por essa razão a mesma proporciona resultados fidedignos que conseqüentemente levam a um melhor prognóstico.

Tabela 2 – Caracterização dos artigos científicos segundo os resultados encontrados.

	AUTOR	PRINCIPAIS RESULTADOS
1	AHMAD et al.,2002	O crescente aparecimento de espécies de <i>Candida</i> resistentes aos azólicos confirma a importância de monitorar possíveis mudanças na distribuição das espécies patogênicas e dos padrões de sensibilidade.
2	WEISSENBACHER et al., 2009	O método diagnóstico de PCR é mais sensível que a cultura na detecção de espécies de <i>Candida</i> na vagina.
3	MAHMOUDI et al., 2012	Os resultados deste estudo mostraram que <i>C. albicans</i> é a espécie mais comum de <i>Candida</i> em CVV entre mulheres seguidas por <i>C. glabrata</i> . Um método de PCR multiplex foi usado para identificar a espécie de <i>Candida</i> que parecia ser um método confiável, rápido e de baixo custo, técnica eficaz, pois requer apenas componentes de PCR e um kit comercial de extração de DNA.
4	CALEFFE et al., 2016	A partir dos estudos de biologia molecular, que envolveram a elucidação da estrutura da molécula de DNA, da descoberta e caracterização de enzimas, como enzimas de restrição, DNA ligase, DNA polimerase entre outras, e o desenvolvimento de técnicas como PCR, muito tem se desenvolvido no que diz

respeito à manipulação genética

5 TARDIF et al., 2017

O ensaio de sequenciamento exibiu menor sensibilidade analítica do que o ensaio de PCR, essa técnica possui maior sensibilidade a *Candida* sp.

Fonte: BVS e NCBI, 2022.

De acordo com os resultados dos artigos científicos, o tema se mostra promissor como uma metodologia a ser aplicada para o diagnóstico de candidíase vulvovaginal. O método diagnóstico de PCR é mais sensível que a cultura na detecção de espécies de *Candida*, portanto é uma maneira mais sensível de detectar esse fungo em comparação com a cultura, como por exemplo *C. albicans* e *C. glabrata*, que são as duas causas mais comuns de candidíase vulvovaginal (MAHMOUDI, 2012).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Constatou-se que existem poucos estudos clínicos a respeito da aplicação da técnica de PCR para o diagnóstico de CVV. Os artigos que foram incluídos na pesquisa enfatizaram que a técnica de reação em cadeia da polimerase é eficaz e sensível as diferentes espécies de *Candida*.

Os resultados dos estudos foram satisfatórios para um melhor diagnóstico da patologia citada. Portanto, sugere-se que a técnica de PCR seja aplicada com mais frequência, para a confirmação dos diagnósticos de CVV, afim diferenciar as espécies causadoras da mesma, bem como contribuir para um melhor tratamento e estudos epidemiológicos acerca do tema.

REFERÊNCIAS

AHMAD, S. et al. PCR seminestada para diagnóstico de candidemia: comparação com cultura, detecção de antígenos e métodos bioquímicos para identificação de espécies. **Journal of Clinic microbiology**. v.40, n.7, 2002.

BEAHMNAESH F, et al. Antifungal effect of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and clotrimazole on *Candida albicans*: an in vitro study. **Scientifica**, v. 1, n. 261397, 2015.

BIGNOUMBA M, et al. Vulvovaginal candidiasis among symptomatic women of childbearing age attended at a Medical Analysis Laboratory in Franceville Gabon. **J Mycol Med**. v.29 n.4, 2019.

BLOSTEIN F, et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis. **Ann Epidemiol.** v.27, Ed.3, 2017.

CALEFFE, R. R. T. et al. Clonagem de genes: métodos e aplicações. **Pesquisa Revista Uningá.** v. 47. n.1. p. 73-77, 2016.

CHAVES GM, et al. Pathogenicity characteristics of stocked and fresh yeast strains. **Rev Braz J Microbiol.** V. 34, p. 197-202, 2003.

COSTA M. et al. Candidiase vulvovaginal: aspectos clinicos, tratamentos oral com azólicos e suscetibilidade in vitro. **Revista De Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology.** v.32, n.2, p.145–162, 2007.

DINGUELESKI A H, et al., Detection of human papilloma virus (HPV) from buccal swab, **Revista Gestão e Saúde.** v. 16, n. 02, p. 9-15, 2017.

FASAEI, B N, TAMAI, A I. Dtection of Salmonella spp, from zoo animais in Iran, determination of serovars, antibiotic susceptibilty and genotyping by RAPD-PCR. **Journal Of The Hellenie, Veterinary Medical Society.** v . 68, n, 3, p. 377-383. 2017.

FELIX T. C., et al. Candida species in the genital tract of women attending a university hospital for gynecological interventions. **Brazilian Journal of Medicine and Human Health.** V.5, n.1, p.13-8, 2017.

FEUERSCHUETTE, O.H M.; et al. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico, Revisão sistematizada. **Femina.** vol 38, nº 2, 2010.

GONÇALVES B, et al. Candidiase vulvovaginal: Epidemiologia, microbiologia e fatores de risco. **Crit Rev Microbiol.** v.42, Ed.6, 2017.

IFTNER.T. et al. Study companing human pailona vírus (HPV) real-time multiplex PCR and Hybrid Capture II INNO-LiPA v2 HPV genotyping PCR Assafs. **J. Clin Microbiol,** v. 47, n. 7. p. 3016-13, 2009.

MAHMOUDI R. M. et al. Identification of Candida species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR. **Infect Dis Obstet Gynecol.** 2012;2012:872169.

MARDH P.A, et al. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis--a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. **Int J STD AIDS.** v.13, n.8, p.522-39, 2002.

MARTENS, M. G, HOFFMAN, P, EL-ZAATARI, M. Fungal species changes in the female genital tract. **J Low Genit Tract Dis.** v.8, n.1, p.21-4, 2004.

PFALLER, M. A, et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. **J Clin Microbiol.** v.44, n.10, p.3551-6, 2007

RAUGUST T. M., DUARTE A. C. R. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico citológico de *Candida* sp., *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*. **Rev. ACiS.** v.1, n.1, p.23, 2013.

RODRIGUES A, CABTARELLI, FRZNTZ M, PILGER D, PEREIRA F. Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. **J Bras Patol Med Lab.** v.6, n.45 p.457-62, 2009.

SALVATORI O, PURI S, TATI S, EDGERTON M. Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*-mediated Oral Diseases. **J Dent Res.** v.95, n.4, p.365-71, 2016.

SANTI, A.; RIZZI, C. Prevalência de candidíase vulvovaginal em mulheres submetidas ao Exame Preventivo do Câncer de Colo Uterino. **NewsLab.** Ed.107, p. 150-157, 2011.

SANTOS SB, et al. Presence of *Candida* spp. and candidiasis in liver transplant patients. **An Bras Dermatol.** v.93, n.3, p. 356-61, 2018.

TARDIF, KEITH & SCHLABERG, ROBERT. Development of a Real-Time PCR Assay for the Direct Detection of *Candida* species Causing Vulvovaginal Candidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.** 88.10.1016/j.diagmicrobio.2017.01.012. 2017.

TORTORANO AM, et al. *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. **Int J Antimicrob Agents.** v.27, v.5, p.359-66, 2006.

WEISSENBACHER T. et al. Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of *Candida* species by culture and polymerase chain reaction. **Arch Gynecol Obstet.** v. 279, n. 2, 2009.

ZIARRUSTA GB. Vulvovaginitis candidiásica. **Rev Iberoam Micol.** V. 19, p. 22-24, 2002.