

FREQUÊNCIAS DE COGUMELOS NA VAGINA E IMPORTÂNCIA DÊSSES MICROORGANISMOS COMO AGENTES DE VULVOVAGINITES. (*)

FLORIANO DE ALMEIDA

Docente livre e Assistente de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de São Paulo.

CARLOS DA SILVA LACAZ

Docente livre e Assistente de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de São Paulo.

DOMINGOS ANDREUCCI

Assistente de Histologia e Embriologia e Assistente extra-numerário da Clínica Obstétrica da Fac. Med. Univ. S. Paulo.

OLGA DE BARROS

Química do Instituto Adolfo Lutz.

PLANO GERAL DO TRABALHO

A

- I — Considerações gerais. Achados de diversos pesquisadores. Fatores que condicionam o aparecimento de leveduras na vagina. A flora vaginal nas portadoras de leveduras.
- II — Leveduras encontradas na vagina. Fontes de infecção.
- III — Significado de uma levedura no conteúdo vaginal. Possibilidades de sua patogenicidade. O quadro clínico da vulvovaginite blastomicética. Relação entre sintomas e achados micológicos.
- IV — Diagnóstico de laboratório da vulvovaginite blastomicética. Valor dos exames imuno-alérgicos.
- V — Princípios gerais de terapêutica.

B

- I — Pesquisas realizadas. Classificação das pacientes. Método de estudo.
- II — Resultados obtidos.

C

Referências bibliográficas.

(*) Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina (Secção de Micologia) e no Instituto Adolfo Lutz.

O material utilizado neste trabalho é quase todo ele proveniente dos ambulatórios da Clínica Obstétrica da Faculdade de Medicina de São Paulo, do Serviço de Ginecologia da Sta. Casa de Misericórdia e da Liga de Combate à Sífilis.

I — CONSIDERAÇÕES GERAIS. ACHADOS DE DIVERSOS PESQUISADORES. FATORES QUE CONDICIONAM O APARECIMENTO DE LEVEDURAS NA VAGINA. A FLORA VAGINAL NAS PORTADORAS DE LEVEDURAS.

Os estudos referentes à flora vaginal têm sido realizados de modo sistemático por numerosos pesquisadores, mas a importância etiopatogênica de muitos microorganismos do conteúdo vaginal, ainda é objeto de controvérsias e discussões as mais diversas.

Já em 1840, Wilkinson demonstrara a presença de leveduras na vagina e, no entanto, ainda hoje discute-se o papel que êsses cogumelos desempenham na gênese de vulvovaginites. Cremos que estas discussões não se justificam, quando se compreender que os dados de laboratório deverão sempre ser interpretados de acôrdo com a clínica. Se um exame micológico cuidadoso revela, repetidas vêzes, a presença de uma levedura na vagina e se o exame ginecológico atesta a presença de lesões de vulvovaginite, se a paciente conta em sua história, manifestações de prurido e corrimento, todos êstes elementos, considerados em conjunto, conduzem a crer no papel patogênico da levedura. Afastadas outras causas produtoras de vulvovaginites (pelos exames laboratoriais e clínicos), o diagnóstico de levedurose vulvo-vaginal se impõe e mais o especialista se certifica do diagnóstico estabelecido, quando a terapêutica específica oferece resultados animadores e não raro brilhantes.

Plass, Hesseltine e Borts (1931) afirmam em seu interessante trabalho "Monilia vulvovaginitis", que a literatura médica à respeito dêsse assunto é muito vasta, e até hoje não se chegou a um acôrdo entre os estudiosos, sôbre o papel desempenhado pelas leveduras como agentes causais de vulvovaginites.

Sabe-se que a prenhez é um dos grandes fatores que condicionam o aparecimento de leveduras na vagina.

Carter e Jones (1937) estudaram a flora vaginal de 114 gestantes aparentemente normais e de 100 pacientes não grávidas. Leveduras foram isoladas de 32% das 114 gestantes e 14% no segundo grupo.

Jones e Martin (1938) realizaram pesquisas sôbre a flora micótica de 52 grávidas e 16 não grávidas, encontrando as mesmas percentagens dos autôres anteriormente citados.

O trabalho de Carter e Jones (1937) é excelente e nos dá uma idéia geral a respeito da flora vaginal da "mulher normal". Afir-mam êsses autôres que a concepção de flora vaginal normal é falsa e irregular, porque os achados bacteriológicos variam com uma série enorme de fatores, tais como hábitos de higiene da paciente, estação do ano, duração de prenhez, menstruação, emprêgo de banhos, du-chas e antissépticos vaginais, etc.

Carter e Jones (1937) empregaram o termo "normal" às pacientes que apresentavam os seguintes requisitos:

- a) Pacientes que ao exame físico geral não apresentavam alte-rações metabólicas e endócrinas dignas de nota;
- b) ausência de corrimento vaginal e de lesões para o lado da vulva, vagina e cervix;
- c) ausência de manifestações de abôrto recente;
- d) ausência de gonococos e de *Trichomonas*;
- e) nenhuma das pacientes havia se submetido a qualquer forma de terapêutica vaginal, tais como duchas, tampões ou supo-sitórios.

Êstes autôres dividiram as pacientes em três grupos, conforme o estudo dos esfregaços vaginais:

Grupo 1 — Presença exclusiva de bacilos de Döderlein, ou de bacilos de Döderlein + *Staphylococcus albus* ou leveduras.

Grupo 2 — Presença de bacilos de Döderlein em pequeno número e de outros microorganismos.

Grupo 3 — Ausência de bacilos de Döderlein.

Os resultados obtidos após o estudo dos esfregaços, divididos em 3 grupos, foram os seguintes:

	<i>Grávidas</i>		<i>Não grávidas</i>	
	N.º	%	N.º	%
Tipo I	19	16,66	15	15
Tipo II	45	39,47	15	15
Tipo III	50	43,85	70	70
Total	114		100	

Os achados bacteriológicos dos referidos autôres podem ser assim esquematizados:

	Grávidas	
	Pretas	Branças
Bacilos difteróides	74%	70%
<i>Staphylococcus albus</i>	78%	61%
<i>Streptococcus anaeróbios</i>		
<i>Streptococcus Gamma</i>	20%	21%
<i>Streptococcus alpha</i>		
<i>Escherichia coli</i>	10%	12%
Leveduras	36%	21%
Bacilos de Döderlein	49%	73%

	Não grávidas	
	Pretas	Branças
Bacilos difteróides	74%	74%
<i>Staphylococcus albus</i>	52%	48%
<i>Streptococcus anaeróbios</i>	54%	46%
<i>Streptococcus gamma</i>	32%	44%
<i>Streptococcus alpha</i>	8%	10%
<i>Escherichia coli</i>	8%	10%
Leveduras	14%	14%
Bacilos de Döderlein	22%	36%

O trabalho desses autôres é muito interessante porque eles estudaram a flora vaginal anaeróbia e microaerófila, de grávidas e de mulheres não grávidas.

Preconizam Carter e Jones o estudo cuidadoso da flora vaginal das "não gestantes" e conforme o resultado obtido, tratá-las convenientemente.

Analisando os fatores que condicionam o aparecimento dos bacilos de Döderlein no trato vaginal, Carter e Jones (1937) citam o trabalho de Weinstein, Bogin, Howard e Finklestone (1936), os quais demonstram o papel da acidez vaginal na prevenção de infecções, particularmente durante a prenhez.

Sugerem estes autôres que a estrina aumenta nas mulheres, à medida que elas alcançam o período de puberdade, assim como nas grávidas, especialmente nos últimos meses de gestação e que a estrina intensifica a acidez vaginal, favorecendo o crescimento dos bacilos de Döderlein. Assim, a administração de estrina a macacas, intensifica a acidez vaginal, com aumento dos bacilos de Döderlein.

Há uma relação muito estreita entre flora bacteriana vaginal, pH, conteúdo de glicogênio da mucosa e altura da camada das células vaginais.

O metabolismo da mucosa vaginal, difícil de se determinar, porque, ao que parece, não existe um método capaz de avaliar a quantidade daquela substância no conteúdo vaginal, está em íntima relação com a estrina. O glicogênio transforma-se em glicose na vagina e à seguir em ácido láctico. Este ácido produz, na vagina normal, um pH mais ou menos igual a 4,0, ótimo para o desenvolvimento dos bacilos de Döderlein. As leveduras vivem igualmente neste pH, preferindo todavia um pH de 5 a 5,5.

Está claro que, à medida que o pH passa a ser neutro ou alcalino, a flora torna-se mixta e esta hipoacidez cria condições especiais para a proliferação de microorganismos patogênicos que vegetam bem em pH de 6,0 — 7,6.

Vemos, pois, que uma “vagina normal” deve conter unicamente bacilos de Döderlein, pH = 3,9 — 4,3 e uma alta camada de células epiteliais.

O aumento do glicogênio durante a prenhez e a relação desse aumento com a flora acidúrica foi também estudada em 1936 por Oberst e Plass.

Um outro trabalho que merece referências especiais, nesta parte introdutória, é o de Carter, Jones e Thomas, (1940).

Estes autôres estudaram, em 200 grávidas, a incidência de leveduras na vulva e na vagina, a relação entre os sintomas apresentados pelas pacientes e os achados micológicos, a possibilidade de alguma correlação existente entre aglutininas no sôro, sensibilidade cutânea e cultivos positivos para leveduras, a incidência de *Trichomonas* em pacientes com leveduras e a relação existente entre os vários tipos de flora vaginal e leveduras e *Trichomonas*.

Estes autôres, em 200 pacientes, 83 primíparas e 117 múltiparas, obtiveram 86 cultivos de leveduras (43%), sendo que de 54 brancas isolaram, apenas 11 vezes cogumelos leveduriformes (20,4%) e de 146 pretas, 75 vezes (51,4%).

A frequência de leveduras na vagina de diabéticas tem sido assinalada repetidas vezes, mostrando êste fato a importância do fator “terreno” na implantação e proliferação das leveduras.

Arce (1940), dá ainda muita importância ao terreno congestivo-varicoso das pacientes e à insuficiência perineal como causas predisponentes à vulvovaginite blastomicética.

Hesseltine (1933), em 21 casos de mulheres diabéticas encontrou, em 18, cogumelos leveduriformes na vagina.

A frequência de leveduras na vagina está, igualmente, na dependência da higiene pessoal. Woodruff e Hesseltine (1938) verificaram por ex. que, em pacientes pretas a incidência de leveduras é maior (41%), ao passo que nas brancas era de 33%. Nas brancas de higiene mais acentuada, a incidência foi de 14%.

A flora vaginal nas portadoras de leveduras: é sempre interessante que, ao lado de cultivos do material vaginal, se pratique um esfregaço, corando-o pelo método de Gram ou por uma de suas modificações.

Vimos, linhas atrás que, segundo Carter e Jones (1937), os esfregaços vaginais podem ser divididos em três tipos:

Tipo I — Bacilos de Döderlein somente ou bacilos + leveduras.

Tipo II — Bacilos de Döderlein com outros microorganismos.

Tipo III — Ausência de bacilos de Döderlein.

Segundo as verificações de Carter, Jones e Thomas (1940), as leveduras foram mais cultivadas em mulheres com flora vaginal do tipo II.

A maioria das pacientes com *Trichomonas*, não apresentava bacilos de Döderlein, pertencendo, pois, ao tipo III.

Nas 200 mulheres estudadas por Carter, Jones e Thomas os resultados obtidos quanto aos tipos de esfregaços vaginais podem ser assim resumidos:

	TIPO I 63 PACIENTES		TIPO II 38 PACIENTES		TIPO III 99 PACIENTES	
	Trichomonas	Candida	Trichomonas	Candida	Trichomonas	Candida
N.º	9	11	13	15	59	31
%	14,3	17,5	34,2	39,5	59,5	31,3

Nos casos por nós observados, a maioria dos cogumelos isolados foi em mulheres com flora do tipo II, o que está em concordância com o trabalho de Carter, Jones e Thomas (1940).

II — LEVEDURAS ENCONTRADAS NA VAGINA. FONTES DE INFECÇÃO.

Diversas espécies de leveduras têm sido isoladas da vulva e vagina, em casos normais e de vulvovaginites.

Uma das espécies mais frequentemente encontradas no trato vaginal é a *Candida stellatoidea* (pesquisas realizadas nos Estados Unidos). Este fungo produz colônias muito características, com uma pequena zona central elevada, de onde partem “braços” radiados, de maneira irregular.

A *Candida stellatoidea* não cresce na superfície do caldo-Sabouraud. As suas colônias, em ágar-sangue, a 37°C, assemelham-se a “estrelas no céu” (Stars in the sky). Não fermentam, com a produção de ácido e gás, a glicose e a maltose.

Carter, Jones e Thomas, em 200 grávidas, isolaram de 86 (43%), cogumelos leveduriformes pertencentes aos gêneros *Candida*, *Saccharomyces* e *Cryptococcus*. A maioria das amostras pertencia à espécie *stellatoidea*, vindo em segundo lugar a *C. albicans*. Vinte e sete (27) das amostras pertenciam aos gêneros *Saccharomyces* e *Cryptococcus*.

As amostras de *C. albicans* foram inoculadas em coelhos por via endovenosa (1 cm³ de suspensão salina a 1%). A morte ocorria nesses animais, dentro de 1 a 5 dias.

A *C. stellatoidea*, injetada na dose de 2 cm³ de uma suspensão a 1%, não se mostrou patogênica para coelhos, inoculados por via venosa.

Além dessas espécies, a *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*, já têm sido isoladas da vagina. Leveduras pertencentes aos gêneros *Torulopsis*, *Cryptococcus* e *Rhodotorula* também têm sido igualmente isoladas. Os caracteres diferenciais das leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, são dados no quadro retirado do trabalho de Mackinnon e Artagaveytia (1945).

Fontes de infecção: Ainda não estão perfeitamente estabelecidas quais as fontes reais da infecção blastomicética vulvovaginal.

As leveduras, veiculadas para a vagina, aí se desenvolvem e se adaptam quando o meio lhes é favorável, conforme já vimos anteriormente.

Diversos pesquisadores acham que as fontes principais de infecção são representadas pelas leveduras encontradas nas fezes

e pequenas lesões do sulco interglúteo; devido à proximidade do anus com a vulva, elas teriam possibilidade de passar para o conteúdo vulvo-vaginal.

É possível, também, que as leveduras encontradas por alguns autôres no sulco bálano-prepucial do homem, sejam levadas, através o coito, para a vagina.

Ninõ (1938), acha que a água empregada nas lavagens vaginais pode ser veiculadora dos fungos.

III — SIGNIFICADO DE UMA LEVEDURA NO CONTEÚDO VAGINAL. POSSIBILIDADES DE SUA PATOGENICIDADE. O QUADRO CLÍNICO DA VULVOVAGINITE BLASTOMICÉTICA. RELAÇÃO ENTRE SINTOMAS E ACHADOS MICOLÓGICOS.

A nosso ver, o achado de uma levedura no conteúdo vaginal deve sempre ser analisado de acôrdo com os dados clínicos (subjetivos e objetivos).

Plass, Hesseltine e Borts (1931) citam Kerr, Fulkerson, Crossen, Graves e Frank os quais admitem a patogenicidade da levedura nas vulvovaginites.

Castellani e Taylor (1935) duvidam desta patogenicidade, porque as leveduras podem ser encontradas na vagina sem determinar o aparecimento de sintomas (portadores assintomáticos).

Stephan acredita que as leveduras não representam os agentes principais na inflamação, pois são geralmente secundários e estão associados a outros processos inflamatórios.

Não há dúvida que leveduras pertencentes ao gênero *Candida* podem estar presentes na vulva e vagina, sem determinar qualquer processo inflamatório, mas em determinadas condições, êstes mesmos cogumelos são capazes de provocar alterações para o lado da parede vaginal.

A relação entre leveduras na vagina e "sapinho bucal" dos recém-nascidos, tem sido muito investigada, achando Woodruff e Hesseltine (1938) que, uma criança de mãe infectada tem 35 vezes mais chance de desenvolver ou de adquirir o sapinho do que crianças de mães não infectadas.

Para um diagnóstico clínico seguro de vulvovaginite blastomictica, na sua forma clássica, impõe-se a presença de um corrimento esbranquiçado ou de placas vaginais, semelhantes a leite coalhado.

Frequentemente se encontra a associação de leveduras com o *Trichomonas vaginalis*, de tal modo que o quadro clínico pode se apresentar alterado.

Nas grávidas, particularmente no último trimestre da gravidez, êste dado é verdadeiro.

O quadro clínico da vulvovaginite blastomicética: Castellani divide as vaginites por leveduras em dois tipos clínicos: um, denominado membranoso, em que a mucosa vaginal fica recoberta por placas membranosas brancas (sapinho vaginal puro) e um segundo tipo — *purulento* — traduzido por um corrimento vaginal rico em cogumelos.

Winckel acha que o sintoma dominante é o prurido vulvar, às vezes acompanhado de ardor à micção e dôres pelvianas.

Entre as mulheres não grávidas, portadoras de vulvovaginite blastomicética, Plass e colaboradores (1931) afirmam que os sintomas se intensificam no período pré-menstrual, quando a acidez vaginal aumenta, em contraste com as infecções produzidas pela *Trichomonas vaginalis*.

Aquí, o desconforto é mais pronunciado durante ou depois da menstruação. Nota-se, frequentemente, nos casos de infecção, a vermelhidão da mucosa dos pequenos lábios e da vagina (1/3 inferior). O processo inflamatório pode envolver a pele da região perianal, com o desenvolvimento de um intertrigo.

Quanto ao corrimento, algumas mulheres o apresentam espesso e amarelado, ao passo que a maioria não revela êste dado.

A sinonímia da moníliase vaginal é muito grande. As expressões “vulvovaginite blastomicética”, “vulvovaginite micótica”, Soor-kolpitis”, “Muguet vulvovaginal”, “Vulvovaginal thrush”, “Vulvite aftosa”, “Micose vaginal”, “Vulvovaginite sacaromicética”, têm sido utilizadas para designar o quadro clínico do “sapinho vaginal”. La Blaye, citado por Popoff e colaboradores (1929), considera as seguintes formas anátomo-clínicas de levedurose vulvovaginal: vaginite cremosa, vulvite cremosa, vulvite ulcerativa, vulvite pseudo-leucoplásica, vulvite eczematiforme, prurido micótico da vulva ou vulvite micótica pruriginosa forma vesículo-pustulosa cutânea.

Arce (1940), descrevendo os sintomas da vulvovaginite blastomicética, distingue os subjetivos e os objetivos. No grupo dos sintomas subjetivos, assinala o *prurido* que é mais pronunciado à

noite e nos períodos que precedem à menstruação, *aumento da sensibilidade vaginal, calor local, ardor ao urinar e leucorréia.*

Entre os sintomas objetivos, nos casos típicos, a vulva está edemaciada, e nas paredes vaginais aparecem pequenos pontos brancos ou branco-amarelados ou então um processo inflamatório difuso, vulvovaginal.

Arce (1940) diz que a "monilíase vulvovaginal" constitui um assunto de grande importância diagnóstica para o médico, achando que os sintomas revelados pela paciente são, quase sempre, devidos à produção de substâncias intermediárias, resultantes do metabolismo das leveduras quando atuam sobre a glicose.

Plass e colaboradores (1931) acham que nos casos de corrimento vaginal em que se encontram leveduras associadas a *Trichomonas*, o tratamento deve ser dirigido principalmente contra o fungo, pois este é, possivelmente o agente responsável, mais provável pelos sintomas.

Relação entre sintomas e achados micológicos: Segundo Carter, Jones e Thomas (1940), o sintoma dominante no quadro da vulvovaginite blastomicética é o prurido. Os outros sintomas, tais como corrimento, ardor, etc, muitas vezes só aparecem quando as lesões já são antigas ou em manifestações agudas de vulvovaginite.

Ao que parece, cogumelos pertencentes aos gêneros *Torulopsis* e *Saccharomyces* não possuem um grande significado do ponto de vista médico. Os *Saccharomyces* pertencem ao grupo das leveduras de interesse comercial e a micoterapia com tais fungos foi mesmo utilizada para a manutenção de uma flora vaginal acidúrica.

Daí a importância do micologista identificar perfeitamente os cogumelos isolados, pois leveduras filamentosas anascógenas, pertencentes ao gênero *Candida*, possuem maior valor do ponto de vista médico.

Segundo Carter, Jones e Thomas (1940), o prurido vaginal nos casos de vulvovaginite blastomicética, é devido, principalmente, a três espécies de *Candida*: *albicans*, *stellatoidea* e *tropicalis*.

Segundo Neuberg e col., certos produtos intermediários da fermentação da glicose, tais como o ácido pirúvico e o acetaldeído, são os responsáveis por alguns sintomas apresentados pelas pacientes, principalmente o prurido.

Nas pacientes em que fungos dos gêneros *Saccharomyces* ou *Cryptococcus* foram isolados, nenhum sintoma foi observado pelos autores acima referidos.

IV — DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO DA VULVOVAGINITE BLASTOMICÉTICA. VALOR DOS EXAMES IMUNO-ALÉRGICOS.

a) *Exame microscópico.* — O material da vulva ou da vagina deverá ser colhido com o auxílio de um estilete em cuja extremidade se coloca um tampão de algodão esterilizado.

Obtido o material, devemos em primeiro lugar praticar um esfregaço, para depois sementeamos em Sabouraud-glicose (placas).

O esfregaço, corado pelo método de Gram ou uma de suas variantes, deverá ser cuidadosamente examinado, anotando o analista a presença dos bacilos de Döderlein, micélios, flora Gram negativa, piócitos, células vaginais, etc.

Como vimos linhas atrás, Carter e Jones (1937) classificam a flora vaginal em três tipos, numa ligeira modificação da velha classificação de Schröder (1921).

Leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, segundo Carter, Jones e Thomas (1940), são frequentemente isoladas de pacientes com o tipo II da flora, ao passo que as *Trichomonas* são observadas comumente nas mulheres com flora tipo III.

Achamos conveniente que, ao lado do esfregaço para a pesquisa de cogumelos, o analista realize um exame a fresco para a procura de *Trichomonas*.

Em alguns casos, apesar do exame microscópico cuidadoso, não se revelam cogumelos e no entanto, as culturas se mostram positivas, mostrando êste fato que o cultivo em meios seletivos constitui um método mais eficiente para o diagnóstico.

Convém que se anote, ao exame microscópico, a presença de filamentos ou de células gemulantes e a quantidade de leveduras encontradas.

Nos casos por nós observados, as leveduras foram, quase sempre encontradas em mulheres com flora I e II, sendo a reação do conteúdo vaginal, ácida.

b) *Culturas.* — O “tampão” vaginal deverá ser imediatamente semeado em placas de Sabouraud-glicose, mantidas a 24-28°C. ou a 37°C. Quando o material não puder ser semeado diretamente, devemos colocar o tampão em um tubo de ensaio contendo caldo-Sabouraud ou solução de ácido cítrico a 10%.

Agita-se depois o meio e passa-se para Sabouraud-glicose. O ágar-mostura e o ágar-mel constituem, igualmente, ótimos meios para o isolamento de leveduras.

c) *Identificação.* — Isoladas as colônias suspeitas de leveduras, pode-se praticar um exame microscópico para confirmar o diagnóstico e, em seguida, à custa dos dados culturais, micromorfológicos e bioquímicos, identificamos a amostra isolada, com relativa facilidade. Para tal, tratando-se de leveduras do gênero *Candida*, seguimos a orientação de Mackinnon e Atagaveytia (1945) ou a de Martin, Jones, Yao e Lee Jr. (1937).

d) *Provas sorológicas.* — Entre as reações que podem ser praticadas no sôro das pacientes, devemos citar a sôro-aglutinação e a reação de fixação do complemento. Para as provas de sôro-aglutinação, Carter, Jones e Thomas (1940) prepararam um antígeno partindo de 5 amostras de *Candida*, isoladas da vagina. Culturas obtidas em Sabouraud-glicose (24 horas), foram suspensas em solução fisiológica, seguindo-se a centrifugação.

Diluição do antígeno a 1:1.000 era realizada.

Sôro diluído e antígeno eram agitados 30 minutos em um agitador mecânico; depois, colocavam-se os tubos em geladeira, durante a noite, voltando-se a agitar no dia seguinte, durante 30 minutos. Seguia-se a leitura da reação.

Os resultados das provas de sôro-aglutinação, obtidos por Carter, Jones e Thomas (1940), foram os seguintes:

De 100 pacientes cujo sôro foi verificado, 35 mostraram possuir aglutininas para as seguintes espécies de *Candida*, ensaiadas: *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis* (*M. candida*), *C. krusei*, *C. parapsilosis*.

Os títulos de aglutininas encontrados variavam de 1:80 a 1:5, respectivamente.

Das 35 pacientes em cujos sôros se demonstraram aglutininas, cultivos positivos para *Candida* foram obtidos em 12 (34,4%).

Das 65 pacientes sem aglutinas no sôro, 22 (33,8%) revelaram cultivos vaginais positivos.

Os autôres chegaram à conclusão de que o fato da presença ou ausência de aglutininas no sôro das pacientes não deve ser empregado como índice de infecção vaginal.

A nosso ver, a reação de fixação do complemento, quando bem interpretada de acôrdo com os dados clínicos e quando realizada com antígenos bem sensíveis, poderá prestar maiores subsídios ao diagnóstico e ao contrôle de cura das vulvovaginites blastomicéticas.

e) *Reações intradérmicas.* — Carter, Jones e Thomas, preparando um antígeno de modo análogo ao utilizado para as provas

de sôro-aglutinação, tendo apenas o cuidado de destruir as leveduras por aquecimento, adicionando como preservativo 0,35% de tricresol, verificaram que em 100 mulheres estudadas, 49 mostraram alguma reação aos cinco antígenos ensaiados.

Das 49 pacientes com reações positivas, 15 (30,6%) revelaram cultivos positivos para *Candida*, sendo que em 12 delas, a positividade da reação correspondia ao antígeno idêntico à amostra isolada da vagina. Na maioria das pacientes, contudo, as reações positivas foram obtidas com outras espécies de *Candida*.

Das 51 pacientes com reações negativas, leveduras pertencentes ao gênero *Candida* foram isoladas em 19 (37,3%).

A percentagem de pacientes com leveduras na vagina foi mais elevada no grupo das que apresentavam reações intradérmicas negativas.

f) *Inoculação da levedura em animais sensíveis.* — Plass e colaboradores (1932) citam as experiências realizadas por Winckel no sentido de inocular vaginas de coelhas com leveduras isoladas de casos humanos de vulvovaginite, a fim de tentar reproduzir um quadro de “sapinho”; conseguiu, porém, a produção de uma ligeira vermelhidão da mucosa, enquanto Colpe, utilizando as mesmas espécies, verificou uma congestão difusa, assim como secreção serosa, que apareceu no segundo dia, desaparecendo ao fim de 10 a 12 dias.

Hausmann, citado por Plass e colaboradores (1931), inoculou por via vaginal uma mulher grávida, observando 9 a 10 dias depois, prurido e queimação vaginal.

O coelho é um animal muito sensível à inoculação venosa da *Candida albicans*.

V — PRINCÍPIOS GERAIS DE TERAPÊUTICA.

Está praticamente estabelecido que o melhor tratamento da vulvovaginite blastomicética reside na aplicação local da violeta de genciana, em solução aquosa a 1 ou 2%.

Segundo Lewis e Hopper (1943), a violeta de genciana constitui a terapêutica mais indicada em todos os casos de leveduroses cutâneas ou mucosas.

Plass e colaboradores (1931), acham, igualmente, que a violeta de genciana representa a terapêutica ideal da vulvovaginite por leveduras (monilíase vaginal). Afirmam textualmente êsses autores: “Gencian violet, in 1 per cent aqueous solution appears to be an

almost specific therapeutic agent. Frequently, two or three applications are sufficient to relieve the itching, although longer treatment is probably necessary to irradicate the organism, completely."

A violeta de genciana é um corante à base da trifenilmetana, possuindo em sua estrutura química 5 ou 6 grupos metílicos.

Ao lado da aplicação local da violeta de genciana, podemos indicar lavagens com borato ou bicarbonato de sódio, permanganato de potássio, etc.

Hesseltine (1937) acha que o iodo é o elemento de mais alto poder fungicida, sendo todavia irritante. Recomenda êste Autor, o emprêgo de supositórios vaginais, compostos de iodeto e iodato de potássio na proporção de 6,2 para 1. Desta mistura se originaria Iodo livre, em contacto com o meio ácido vaginal. Alguns Autôres recomendam o emprêgo do picrato de prata em supositórios vaginais.

A vacinoterapia não é muito indicada, pois a micose é benigna, não requerendo, portanto, medidas imunobiológicas de tratamento.

Alguns Autôres indicam a ingestão de cabornato de magnésio e de cálcio em doses elevadas, assim como dieta isenta de cereais, batata, pão e amiláceos. Em certas formas de vulvovaginite, rebeldes ao tratamento pela violeta de genciana, alguns autôres recomendam o mercúrio crômo.

— B —

I — PESQUISAS REALIZADAS. CLASSIFICAÇÃO DAS PACIENTES. MÉTODOS DE ESTUDO.

Tôdas as pacientes por nós estudadas eram primariamente divididas em dois grupos: o das gestantes e o das não gestantes.

Uma observação cuidadosa era feita, preenchendo-se os dados constantes de uma ficha padrão, na qual se anotavam o nome da paciente, côr, estado civil, profissão, idade da prenhez, número de partos, número de abortos, dados sôbre corrimento, na infância, quando solteira ou casada, e neste caso por ocasião da gravidez, cuidados higiênicos, etc.

A côr, consistência, aspecto, quantidade, cheiro e periodicidade do corrimento eram anotados. O prurido, a influência da menstruação sôbre o corrimento, a presença de "assadura" eram também suficientemente anotados, ao lado de exame dos órgãos genitais externos e internos (exame das paredes vaginais e do colo).

Feito o exame clínico cuidadoso e preenchida a ficha, o material era colhido com o auxílio de um estilete montado com algodão, em uma das extremidades, tudo esterilizado e imediatamente enviado ao laboratório.

Sistemáticamente fazíamos um esfregaço corado pelo método de Gram, para o estudo da flora vaginal.

As culturas eram praticadas em meios de Sabourau-glicose, dispostos em placas de Petri, assim como em ágar-glicosado e acidificado pelo ácido tartárico a 1%, colocados à temperatura de 37°C.

A identificação dos cogumelos leveduriformes pertencentes ao gênero *Candida*, foi realizada segundo a orientação de Martin e colaboradores (1937). Recorremos sempre, nos casos de dúvida, ao método do auxanograma em fontes azotadas e hidrocarbonadas, diferenciando as leveduras do gênero *Candida* de acôrdo com os dados colhidos no recente trabalho de Mackinnon e Artagaveytia (1945).

Os resultados obtidos estão adiante expostos.

A identificação das leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, segundo Martin e colaboradores (1937), se faz do seguinte modo:

IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS PERTENCENTES AO GÊNERO *CANDIDA*

Segundo Martin, Jones, Yao e Lee Jr.

1 — Isolar o fungo em ágar-Sabouraud.

Glicose Bacto	40 g.
Peptona Fairchild	10 g.
Ágar	25 g.
Água destilada	1.000 cm ³ .

Misturar no autoclave, filtrar através algodão. Distribuir e esterilizar. Não há necessidade de determinação do pH.

2 — Transplantar para Sabouraud-líquido e incubar a 37°, durante 48 horas.

Para o Sabouraud-líquido, usar a mesma fórmula que a anterior, menos o ágar. Não há necessidade de filtração, nem de determinação do pH. Preparar, distribuir e esterilizar.

3 — Depois de se anotar o tipo de crescimento em Sabouraud líquido, o sedimento é agitado e semeado em placas de ágar-sangue (pH igual a 7,4) e incubado a 37°C, durante 10 dias. Anotar o tipo de colônia e passar uma delas para um tubo de Sabouraud-glicose sólido.

Preparar em primeiro lugar o ágar-simples.	
Extrato de carne Difco	3 g.
NaCl	5 g.
Peptona Difco	10 g.
Ágar	25 g.
Água destilada	1.000 cm ³ .

Misturar no autoclave, pH igual a 7,6. Filtrar. Distribuir. Autoclavar.

O ágar-sangue será preparado com 10% de sangue estéril, citratado, de carneiro.

4 — Estudada a colônia em ágar-sangue, transplantar uma colônia para Sabouraud-glicose, incubando-a a 37°C, durante 24-48 horas. Passar depois para um tubo com cenoura, deixada à temperatura ambiente, para pesquisa de ascósporos. O restante do material passa-se para ágar-simples (pH igual a 7,4).

5 — Prepara-se uma suspensão da levedura (1 a 2 cm³ de uma suspensão espessa) e 4 tubos com caldo, contendo os seguintes açúcares: glicose, sacarose, lactose e maltose. Incubar 10 dias a 37°C.

Adiciona-se em cada tubo um pouco de uma mistura de vaselina-parafina.

<i>Caldo + H. C.</i>	
Extrato de carne	3 g.
NaCl	5 g.
Peptona Difco	10 g.
Água destilada	900 cm ³ .

Aquecer até ferver e titular exatamente o pH à 7,2. Adicionar 100 cm³ da solução indicadora. Filtrar. Distribuir quantidades de 10 cm³. Autoclavar 15 minutos. Adicionar 0,5 cm³ de uma solução a 20% do H.C., esterilizado por filtração em Seitz. O caldo não deverá ser conservado mais de 2 a 3 semanas, devido à mudança no seu pH.

Para a obtenção rápida de ascos, utilizamos geralmente uma água de fécula de batata.

Solução indicadora:

Bromotimol azul	0,04 g.
Água destilada	100 cm ³ .

Adicionar uma pequena quantidade de NaOH N para tornar a solução alcalina.

6 — Preparar lâminas em “corn meal ágar”.

62,5 g. de “corn meal” em 1.500 cm³ de água. Aquecer a 60°C. durante 1 hora. Filtrar através papel. Perfazer um volume de 1.500 cm³. Adicionar 19 g. de ágar. Esterilizar. Filtrar em algodão. Distribuir. Esterilizar. Não há necessidade de ajustar o pH. Fundir e distribuir em camada fina sôbre lâminas esterilizadas, e semear a cultura. Semeado o material, deixa-se incubado à temperatura ambiente, durante vários dias.

Desidratar a lâmina, deixando-a à temperatura ambiente durante 36 a 48 horas. Corar 15 minutos com Lacto-fenol-azul-algodão.

Cristais de fenol	20 g.
Ácido láctico	20 cm ³ .
Glicerina	40 cm ³ .
Água destilada	20 cm ³ .

Dissolver em fogo brando (banho maria). Adicionar 1 g. de azul algodão.

Descarregar o corante e imergir em álcool a 70% durante 10 minutos (até que o ágar seja completamente descorado). Passar a lâmina em álcool a 95%, acetona, mistura em partes iguais de acetona e xilol e finalmente xilol. Tirar do xilol e montar imediatamente em bálsamo neutro.

7 — Pesquisar ascosporos em cenoura.

Nas pesquisas que empreendemos, por falta do “corn meal”, utilizamos para o preparo das lâminas o meio de Rivalier que é um ágar-mole, a 0,5%.

Após a semeadura, o material era deixado na ante-câmara da estufa (temperatura de 24-28°C), durante 3 a 4 dias. Secar em estufa a 37°C.

Em alguns casos torna-se um pouco difícil a determinação de certas espécies de leveduras e outras provas são necessárias, tais

como o método do auxanograma em fontes azotadas e de hidratos de carbono.

Não chegamos a identificar até espécie, leveduras pertencentes aos gêneros *Rhodotorula*, *Torulopsis* e *Saccharomyces*, pois achamos que tais fungos precisam sofrer um estudo crítico, de revisão, das espécies conhecidas, adotando-se então uma chave de classificação que atenda aos interesses práticos e científicos.

Na Secção de Micologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, adotamos o seguinte plano geral na identificação das leveduras de interesse médico:

1 — *Isolamento da levedura*: Meios de Sabouraud-glicose, Gelse glicosada e acidificada pelo ácido tartárico a 1-2%, Ágar-mel e Sabouraud-mel. Quando o material está muito contaminado, semeamos primeiramente em Sabouraud-líquido ou em solução de ácido cítrico a 10%. Após 12 a 24 horas em temperatura ambiente ou na ante-câmara da estufa, passamos para os meios acima assinalados, incubando-os durante 24-48 horas na estufa a 37°C ou em ante câmara da estufa (24-28°C).

2 — *Identificação*

2a. Verificar a temperatura ótima de crescimento (temperatura ambiente, ante-câmara de estufa e estufa a 37°C).

2b. Estudar os caracteres macromorfológicos da levedura em Sabouraud-glicose, Mosto-líquido e Caldo-Sabouraud. No caso do Caldo-Sabouraud, fazer a leitura após 48 horas de incubação a 37°C. Anotar a formação da película, com ou sem bolhas de gás na superfície do meio, crescimento em profundidade, ausência de crescimento na superfície, etc.

2c. Estudar os caracteres micromorfológicos em água de fécula de batata (24-48 horas, a 37°C), para observar a filamentação ou não da levedura e formação de ascos, em ágar-mel e em Sabouraud-glicose. Praticar cultivos em lâminas, usando o meio de Rivalier. Este processo é de grande vantagem para a identificação das espécies pertencentes ao gênero *Candida*.

2d. Pesquisar os ascosporos, semeando a amostra isolada em cenoura, ágar-mel, água de fécula de batata e bloco de gesso com água corrente ou água manitada a 2% + fosfato de dipotássico a 5%.

2e. Estudar os caracteres bioquímicos da levedura: Estudar a fermentação dos carboidratos (Dextrose, Sacarose, Maltose e

Lactose), tendo o cuidado de empregar soluções a 20% dos referidos açúcares. Usar como indicadores o indicador Andrade ou o azul de bromotimol. Uma vez semeados os tubos, deixar correr pelas paredes do tubo, mescla fundida de parafina e vaselina.

Verificar a ação da levedura sobre o mosto-gelatinado.

2f. Verificar a utilização de diferentes fontes de C e Az por parte da levedura (auxanograma dos H.C. e Auxanograma do Az). Fazer a leitura após 24-48 horas e 6 dias. Como fontes de H.C., empregar: Dextrose, Rafinose, Maltose, Lactose, Sacarose e Inulina.

Como fontes de Az, empregar: Asparagina, Peptona, Sulfato de amônio, Uréia e Nitrato de potássio. Incubar na ante-câmara da estufa (24-28°C).

2g. Inoculação da amostra em animais sensíveis, principalmente o coelho, por via endovenosa.

II — RESULTADOS OBTIDOS

Foram examinadas 150 gestantes, brancas, pretas e mulatas. Dêsses exames, 37 foram positivos para leveduras (2 *Saccharomyces*, 4 *Candida tropicalis*, 22 *Candida albicans*, 2 *Candida krusei* e 7 *Torulopsis*). A incidência de cogumelos foi portanto, de 24,6%.

Foram examinadas 190 mulheres não grávidas, tendo sido isodas 28 amostras de fungos, bastante diferentes entre sí e bem diversos daqueles encontrados e isolados do conteúdo vaginal das gestantes.

Assim, isolamos 9 amostras de *Candida albicans*, 1 *Rhodotorula*, 3 *Actinomyces*, 7 *Torulopsis*, 2 *Saccharomyces*, 4 *Candida krusei*, 1 *Candida sp.* e 1 levedura esporulada não identificada. Incidência percentual de 14,7. Dêsse modo, verifica-se que nas grávidas a incidência de leveduras foi maior, fato êste que está em concordância com os resultados dos demais autôres.

Em trabalho que publicaremos posteriormente, analisaremos a relação entre os achados micológicos e os principais dados clínicos obtidos.

Êste nosso primeiro trabalho é de casuística e de generalidades sobre tão interessante assunto. Em outros, ventilaremos a parte clínica e estudaremos os sintomas e os sinais colhidos nas pacientes investigadas.

GESTANTES

<i>Caso</i>	<i>Identificação</i>
1	Saccharomyces
2	Candida tropicalis
8	Candida albicans
12	Candida albicans
13	Candida albicans
14	Candida albicans
27	Candida albicans
32	Candida krusei
34	Candida albicans
37	Candida albicans
45	Candida krusei
46	Candida albicans
49	Candida tropicalis
51	Candida tropicalis
52	Torulopsis
54	Candida tropicalis
56	Candida albicans
57	Candida albicans
71	Candida albicans
72	Candida albicans
75	Candida albicans
77	Candida albicans
80	Candida albicans
85	Saccharomyces
94	Candida albicans
98	Candida albicans
108	Candida albicans
113	Candida albicans
118	Candida albicans
119	Candida albicans
121	Torulopsis
125	Candida albicans
129	Torulopsis
139	Torulopsis
141	Torulopsis
146	Torulopsis
148	Torulopsis

NÃO GESTANTES

<i>Caso</i>	<i>Identificação</i>
1	Candida albicans
9a	Candida albicans
9b	Rhodotorula
22	Candida albicans
36	Actinomyces
39	Torulopsis
40	Saccharomyces
42	Torulopsis
58	Candida albicans
76	Candida krusei
84	Candida krusei
98	Torulopsis
99	Candida krusei
101	Actinomyces
104	Actinomyces
107	Candida krusei
108	Saccharomyces
116	Candida albicans
117	Candida albicans
119	Candida sp.
145	Torulopsis
147	Levedura esporulada não identificada
147	Levedura esporulada não identificada.
161	Candida albicans
172	Torulopsis
177	Torulopsis
180	Candida albicans
181	Torulopsis
186	Candida albicans

CLASSIFICAÇÃO DAS LEVEDURAS
DO
Gênero *CANDIDA* (seg. Martin, Jones, Yao e Lee Jr.)

Candida	Sab. líquido — 48 hs. (37°C)	Agar-sangue (10 dias — 37°C)	Açúcares (37°C — 10 dias)				Microscopia em "corn-meal agar"	Relação de algumas espécies sinônimas
			Dextrose	Sacarose	Maltose	Lactose		
<i>albicans</i>	Ausência de crescimento na superfície do meio.	Colônias típicas, uniformes, redondas, acinzentadas.	Ag	A	Ag	—	Micélio ramificado, com clamidosporos.	<i>C. psilosis</i> , <i>C. triadis</i> , <i>C. ovalis</i> , <i>C. pinoy</i> , <i>C. metalondinensis</i> , <i>C. aldoi</i> .
<i>stellatoidea</i>	Ausência de crescimento na superfície do meio.	As colônias aparecem como estrelas no céu (Star in the sky).	Ag	—	Ag	—	Grupos de esporos semelhantes à bolas.	—
<i>paraKrussei</i> (parapsilosis)	Ausência de crescimento na superfície do meio.	Colônias pequenas, redondas, brilhantes, brancas e salientes.	Ag ou A	—	—	—	Micélio formado com dificuldade. Ausência de clamidosporos.	<i>C. parapsilosis</i> , <i>C. brumpti</i> , <i>C. lodderi</i> , <i>C. flaveri</i> , <i>C. chalmersi</i> .
<i>Krussei</i>	Ampla "film" ou camada na superfície do meio.	Colônias pequenas, irregulares, planas ou salientes.	Ag	—	—	—	Micélio típico, em "crossed sticks". Ausência de clamidosporos.	<i>Geotrichoides Krusei</i> , <i>C. Krusei</i> , <i>C. chevalieri</i> .
<i>tropicalis</i>	Estreita camada ou "film", na superfície do meio, com bolhas.	Colônias acinzentadas, com bordas frangeadas.	Ag	Ag	Ag	—	Micélio ramificado, com confídios. Ausência de clamidosporos.	<i>M. candida</i> , <i>C. vulgaris</i> , <i>C. kefyi</i> , <i>Mycotorula trimorpha</i> , <i>C. intermedia</i> .
<i>pseudotropicalis</i> (mortifera)	Ausência de crescimento.	Pequenas colônias irregulares e não características.	Ag	Ag	—	Ag	Micélio ramificado, sem clamidosporos e que se forma com dificuldade.	<i>C. mortifera</i> .

QUADRO RETIRADO DO TRABALHO DE MACKINNON E ARTAGAVEYTIA (1945)

	Zimograma				Auxanograma dos H. C.							Auxanograma dos compostos Az.					Outras propriedades		
	D	S	L	Mse	D	S	L	M	Gal.	Raf.	Inulina	Urcia	KNO ₃	Sulfato amônico	Asparagina	Peptona	ótimo temp.	G.-virulência coelhos	Utilização álcool e tñico
<i>C. albicans</i>	G	—	—	G	+	+	—	+	+	—		—	—	+	+	+	30-37°	1.º	—
<i>C. stellatordea</i>	G	—	—	G	+	—	—	+	+	—		—	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. tropicalis</i>	G	G	—	G	+	+	—	+	+	—		—	—	+	+	+	30-37°	2.º	—
<i>C. intermedia</i>	G	G	—	G	+	+	+	+	+	—		—	—	+	+	+	20-37°	—	+
<i>C. pelliculosa</i>	G	G	—	G	+	+	—	+	+	—		—	—		+	+	30-37°	—	—
<i>C. Krusei</i> *	G	—	—	—	+	—	—	±	±	—		+	—	+	+	+	30-37°	—	+
<i>C. paraKrusei</i>	G	—	—	—	+	+	—	+	+	—		—	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. guilliermondi</i>	G	G	—	—	+	+	—	+	+	+	—	—	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. chalmersi</i>	G	G	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. macedoniensis</i>	G	G	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. pseudotropicalis</i>	G	G	G	—	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	30-37°	—	—
<i>C. brumpti</i>	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—		—	—	+	+	+	20-30°	—	+
<i>C. flaveri</i> †	—	—	—	—	+	+	—	+	+	+		±	—	+	+	+	20-30°	—	—
<i>C. suaveolens</i>	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—		+	—	+	+	+	30-37°	—	+
<i>C. deformans</i> ‡	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—		+	—	+	+	+		—	+
<i>C. ceylanoides</i> ‡	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—		—	—	—	—	+		—	—

* O auxanograma dos açúcares foi estudado no meio de Laurent.

† O auxanograma da uréia é + ou —, dependendo do extrato de levedura juntado ao meio.

‡ Estas amostras não foram estudadas por Mackinnon e Artaganeytia. Os dados são obtidos de Langeron e Guerra.

C. — BIBLIOGRAFIA

- ARCE, FRANCISCO RUIZ — 1940 — Moniliasis vulvovaginal. *An. Brasil Gin.* 9: 483.
- BLAND, P. B., RAKOFF, A. E. and PINCUS, I. J. — 1937 — Experimental vaginal and cutaneous moniliasis. *Arch. Dermat. and Syphil.* 36: 760.
- CARTER, B. and JONES, C. P. — 1937 — A study of the vaginal flora in the normal female. *Southern Med. Journ.*, 30: 294.
- CARTER, B., JONES, CLAUDIUS P. and THOMAS, WALTER L. — 1940 — Vulvovaginal mycoses in pregnancy, with the relation of symptoms to genera and species of fungi. *Amer. Jour. Obst. Gynec.*, 39: 213.
- CASTELLANI, A. and TAYLOR, F. E. — 1925 — Vaginal monilias and vaginal moniliasis. *Journ. Obst. Gynec. Brit. Empire*, 32: 69.
- HESELTINE, H. C. — 1933 — Diabetic or mycotic vulvovaginitis. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 100: 177.
- JONES, CLAUDIUS P. and MARTIN, DONALD S. — 1938 — Identification of yeastlike organisms isolated from the vaginal tracts of pregnant and nonpregnant women. *Amer. Jour. Obst. Gynec.*, 35: 98. ,
- LEWIS, G. and HOPPER, M. E. — 1943 — An introduction to medical mycology. Second Edition. The Year Book Publishers, Inc. Chicago.
- LODDER, J. — 1934 — Die Anaskosporogenen Hefen. Amsterdam.
- MACKINNON, JUAN E. y ARTAGAVEYTIA, ALLENDE, RICARDO G. — 1945 — The so-called genus *Candida* Berkhout, 1923. *Journ. Bact.*, 49: 317.
- MARTIN, D. S., JONES, C. P., YAO, K. F. and LEE JR., L. E. — 1937 — A practical classification of the Monilias. *Jour. Bact.* 34: 99.
- MARTIN, D. S. and JONES, C. P. — 1940 — Further studies on the practical classification of the Monilias. *Jour. Bact.*, 39: 609.
- NEGRONI, P. — 1935 — Flora micologica vaginal de mujeres no embarazadas. *Folia Biologica.* 52, 53, 54, 55: 238.
- NINÓ, FLAVIO L. — 1938 — Contribución al estudio de las blastomicosis en la Republica Argentina. *Bol. Inst. Clin. Quirúrgica*, Julio.
- OBERST, F. W. and PLASS, E. D. — 1936 — The hydrogen ion concentration of human vaginal discharge. *Amer. Jour. Obst. Gynec.*, 32: 22.
- PLASS, E. D., HESSELTINE, H. C. and BORTS, I. A. — 1931 — Monilia vulvovaginitis. *Amer. Journ. Obst. Gynec.*, 21: 320.
- POPOFF, W. W., FORD, FRANCIS and CADMUS, W. H. — 1929 — Mycotic vulvovaginitis. *Amer. Journ. Obst. Gynec.*, 18: 315.
- STELLING DEKKER, N. M. — 1931 — Die Sporogenen Hefen. Amsterdam.
- WEIHSTEIN, LOUIS et al. — 1936 — A survey of the vaginal flora at various stages, with special reference to the Döderlein bacillus. *Amer. Jour. Obst. Gynec.*, 32: 211.
- WOODRUFF, P. W. and HESSELTINE, H. C. — 1938 — Relationship of oral thrush to vaginal mycosis and the incidence of each. *Amer. Jour. Obst. Gynec.*, 36: 467.

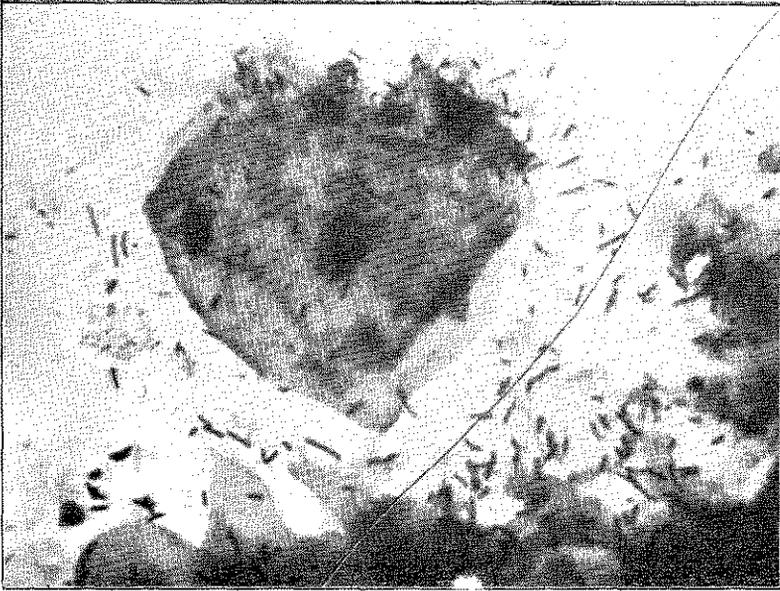


FIG. N.º 1 — Esfregaço vaginal. Grande número de bacilos de Döderlein.

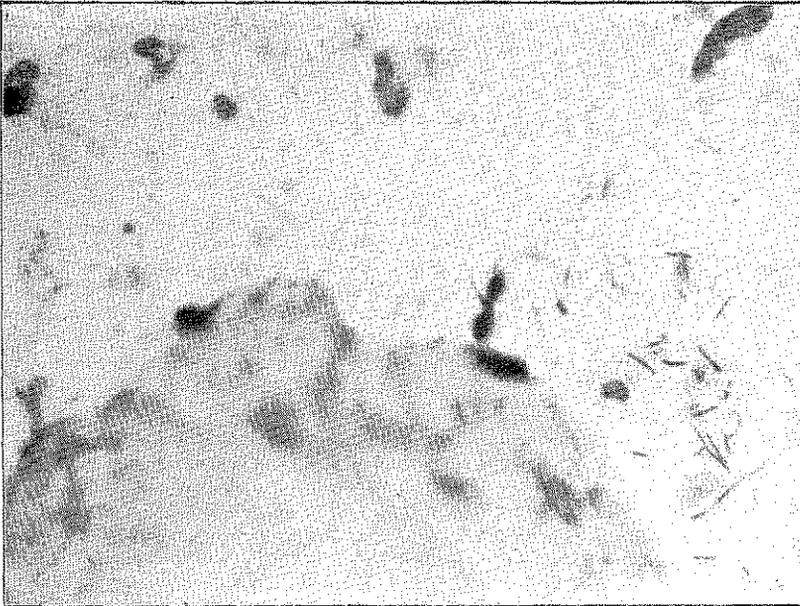


FIG. N.º 2 — Esfregaço vaginal. Leveduras (formas gemulantes) e bacilos de Döderlein.

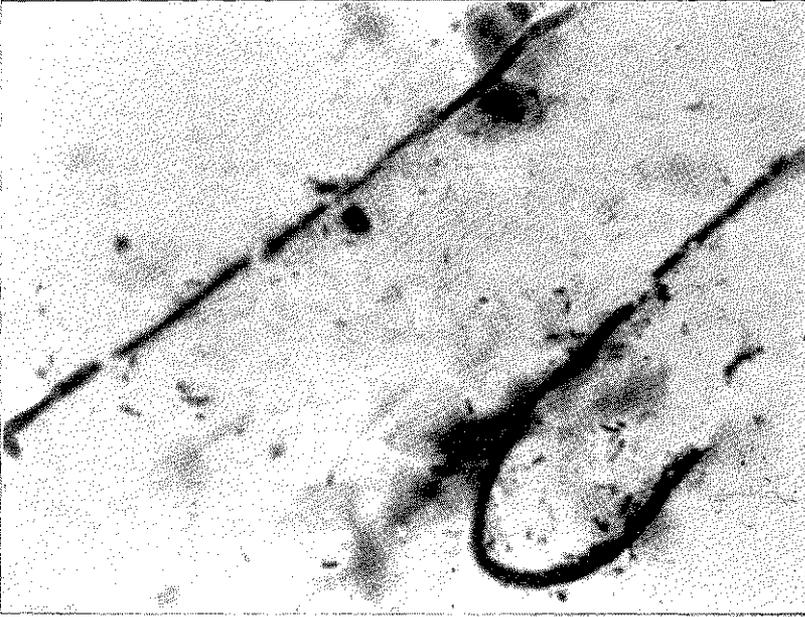


FIG. N.º 3 — Formas filamentosas de leveduras. Esfregação vaginal.

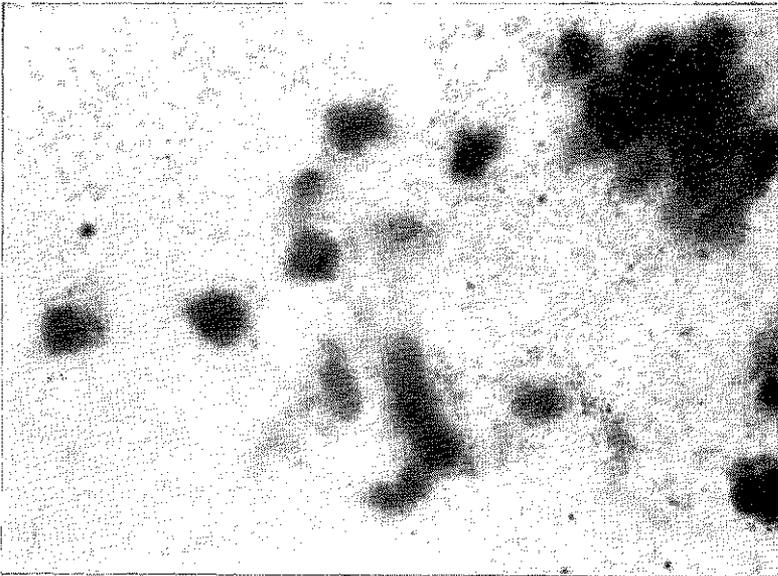


FIG. N.º 4 — Esfregago vaginal. Flora bacteriana mixta, predominantemente Gram-negativa.

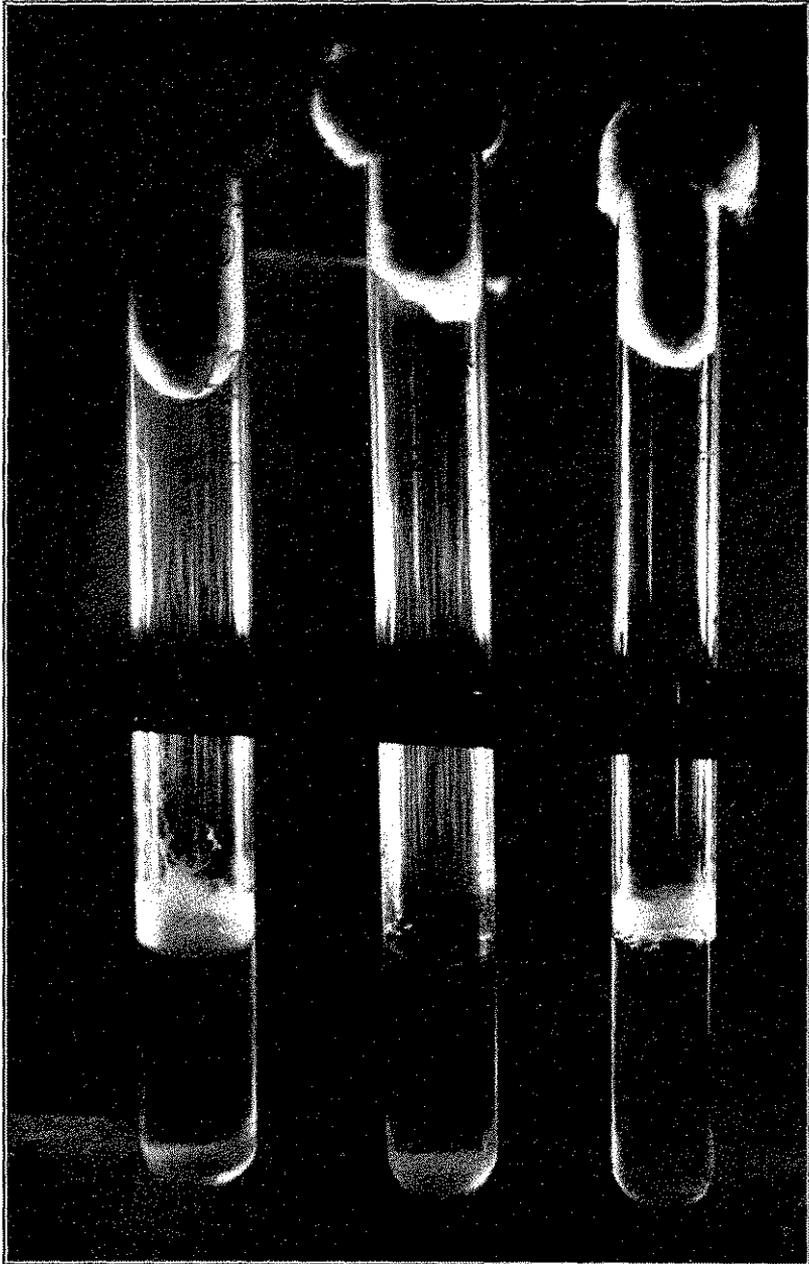


FIG. N.º 5 — Crescimento em Sabouraud-líquido, de algumas leveduras isoladas de vagina. Notar o crescimento superficial, em película, a ausência de desenvolvimento na superfície e o crescimento em manguito periférico, com numerosas bolhas de gás.

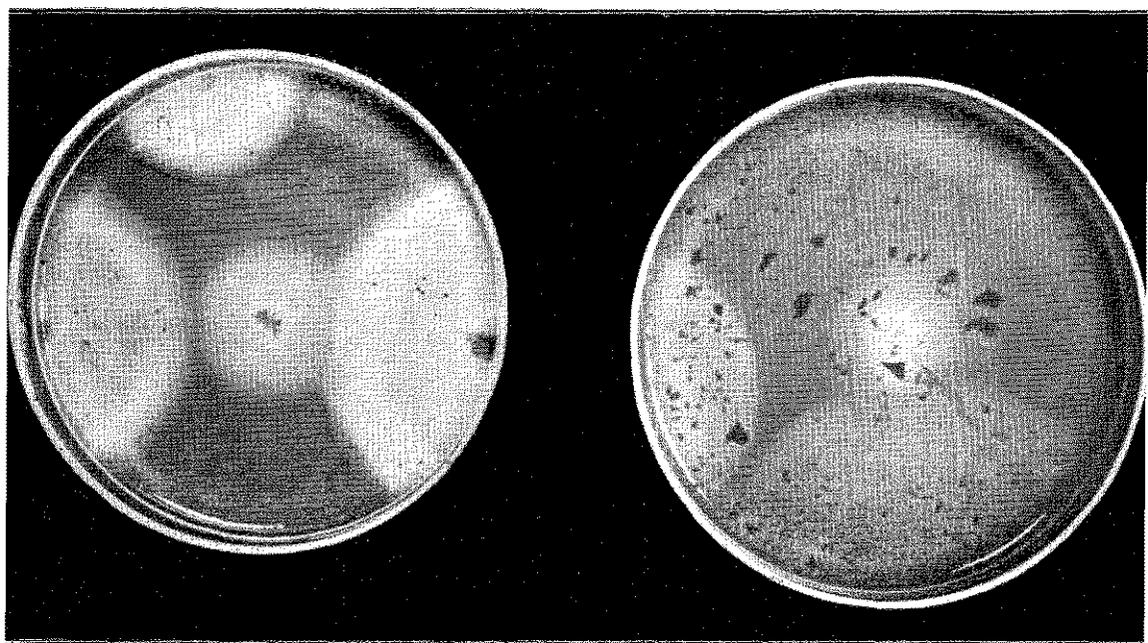


FIG. N.º 6 — Aspecto de auxanogramas em fontes azotadas. Notar o crescimento característico, em tórno da fonte nitrogenada.

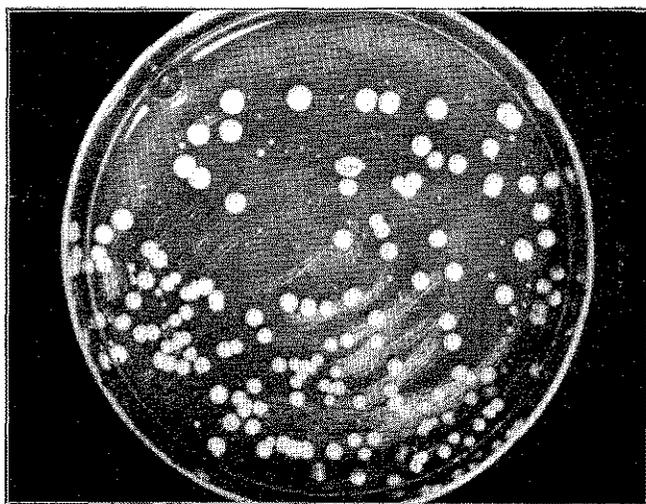


FIG. N.º 7 — Numerosas colónias de leveduras isoladas da vagina. Meio de Sabouraud-glicose.

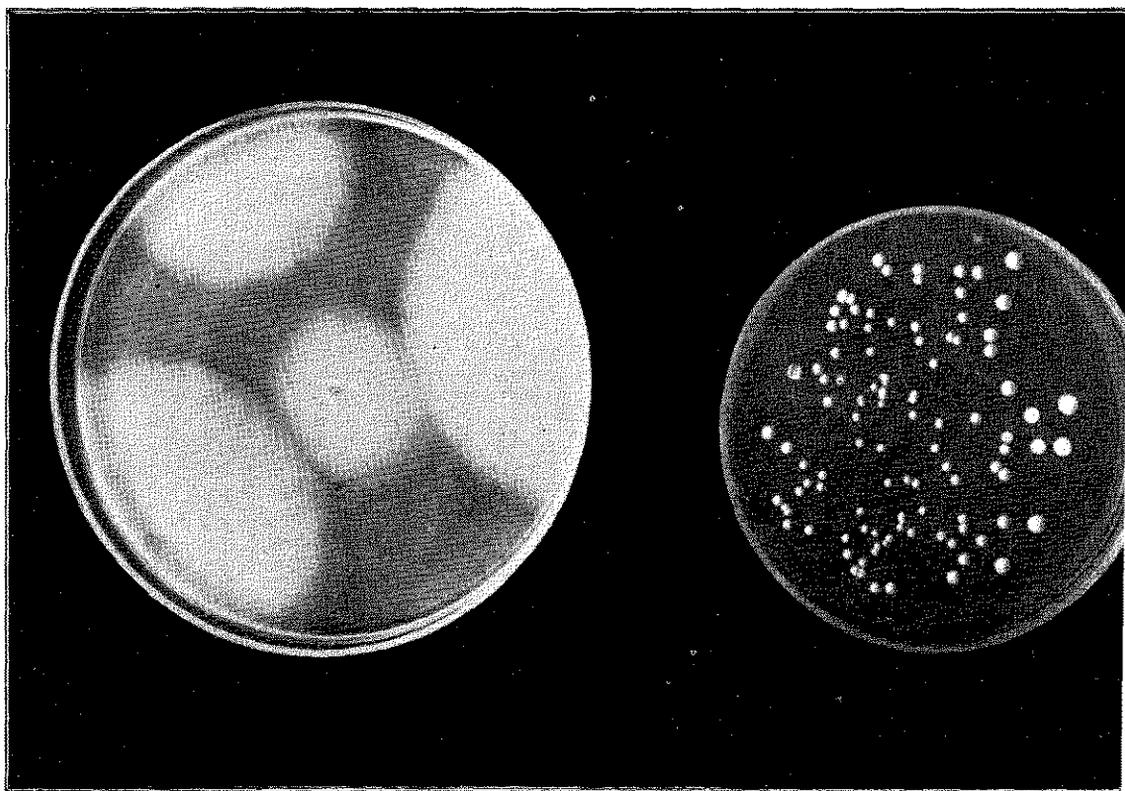


FIG. N.º 8 — Aspecto de um auxanograma e cultivo de material da vagina em placa de Sabouraud-glicose.