
DIAGNÓSTICO DE VAGINOSES

EM MULHERES ASSINTOMÁTICAS

ATENDIDAS NO HOSPITAL MATERNO INFANTIL

DE GOIÂNIA-GO, DE FEVEREIRO A MARÇO DE 2001

Sylvia E. de Oliveira Nielson,¹ Cleomenes Reis,² Albenones José de Mesquita³ e Edson Marden Bonifácio e Souza⁴

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de vaginose bacteriana no Hospital Materno Infantil de Goiânia-GO. Utilizaram-se as colorações de Papanicolaou e Gram, com a finalidade específica de detectar a presença de *Mobiluncus* spp. Além disso, procurou-se isolar e identificar *Gardnerella vaginalis* e outros microrganismos prevalentes, correlacionando os resultados obtidos com os possíveis casos de lesões do colo uterino diagnosticados com o auxílio da coloração de Papanicolaou. Setenta e três pacientes foram submetidas à avaliação citológica Papanicolaou e ao cultivo convencional para identificação da microbiota prevalente. Desse total, 19 (26%) apresentaram quadro sugestivo de vaginose bacteriana e também o espécime analisado através da bacterioscopia – coloração de Gram. As outras 54 (73,9%) demonstraram, na avaliação citológica, microbiota não sugestiva de vaginose bacteriana, na ausência de *clue cell*. Todas as amostras foram submetidas à análise através da cultura, independente do resultado apresentado pela citologia.

DESCRITORES: *Gardnerella vaginalis*. *Mobiluncus* spp. Vaginose bacteriana.

INTRODUÇÃO

A vaginose bacteriana, uma das infecções prevalentes entre mulheres sexualmente ativas, apresenta-se em cerca de 37% a 64% de mulheres em clínicas de ginecologia (Thomason et al. 1991, Biswas 1993). Devido à sua sintomatologia, gera transtornos a várias mulheres, sendo caracterizada por leucorréia profusa, mudança de pH vaginal, odor fétido, presença de *clue cells* no conteúdo vaginal e

-
- 1 Farmacêutica-Bioquímica, mestre em Medicina Tropical. Área de concentração: Bacteriologia.
 - 2 Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, da Universidade Federal de Goiás (UFG).
 - 3 Departamento de Microbiologia da Escola de Veterinária, UFG.
 - 4 Departamento de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás.

Endereço para correspondência: E-mail: jmrezende@cultura.com.br

Recebido para publicação em 1/7/2003. Revisto em 22/6/2004. Aceito em 30/10/2004.

ausência de leucócitos polimorfonucleares. Portanto, do ponto de vista patológico, não há inflamação, e sim uma situação especial de alteração da microbiota genital. Essa alteração envolve inversão da microbiota e um crescimento exagerado de bactérias, tanto aeróbias como anaeróbias, que substituem os lactobacilos.

Assim, em razão do predomínio de *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp, *Bacteroides* spp, *Peptococcus* spp, *Peptostreptococcus* spp, *Mycoplasma hominis* e de várias outras espécies de anaeróbios e anaeróbios facultativos, como *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli*, os lactobacilos são raramente isolados na vaginose bacteriana (Paavonen 1983, Easman 1986, Eschenbach et al. 1989). Ao exame microscópico, observam-se, portanto, pequeno infiltrado leucocitário e presença de *chue cells* (Chen et al. 1982).

Para o diagnóstico correto da infecção, utilizam-se critérios clínicos e laboratoriais, dentre eles os padrões homogêneo, cinza hemorrágico e leitoso do conteúdo vaginal, a aferição do pH vaginal (> 4,5), a eliminação de bioaminas voláteis, a visualização da microbiota cocobacilar e a presença de células indicadoras, *chue cells*, pela coloração de Gram (Nugent et al. 1991, Priestley et al. 1996).

Em casos de vaginose bacteriana, através da coloração de Papanicolaou é possível detectar a presença de células indicadoras de *G. vaginalis* e a marcada ausência de lactobacilos. Mas, para tanto, torna-se necessário utilizar a lente de imersão a fim de detectar os mobiluncus, que são bastonetes delgados e curvos, *coma shaped*, em meio a um aumento do número de bactérias de fundo, como *Bacteroides* spp, *Peptostreptococcus* spp, *Streptococcus* spp etc. (Paim et al. 1993).

Embora por si só *G. vaginalis* seja capaz de produzir vaginose, os sinais e sintomas são mais acentuados quando esse microrganismo está associado a outros anaeróbios ou a agentes etiológicos conhecidos (Raso & Tafuri 1992). O conceito de que *G. vaginalis* não era o único agente da vaginose surgiu a partir de 1978, quando vários investigadores começaram a observar um co-fator na gênese da infecção: o relacionamento simbiótico entre *G. vaginalis* e bactérias anaeróbias semelhantes a bastonetes curvos. Os bastonetes são móveis, Gram-negativos e Gram-variáveis, e foram recentemente classificados dentro de um novo gênero, o *Mobiluncus* (*mobilis*, móvel; *uncus*, unha). Esse gênero inclui duas espécies (*M. mulieris* e *M. curtisii*), além de duas subespécies (*M. curtisii curtisii* e *M. curtisii holmesii*). A importância do diagnóstico correto de tais espécies, quer seja por cultura ou por bacterioscopia, decorre do fato de que a espécie *curtisii* é resistente ao metronidazol, tratamento de escolha para vaginose bacteriana (Paim et al. 1993).

Diante do exposto e considerando a relevância do tema, objetivou-se verificar, por meio de um estudo realizado no Hospital Materno Infantil de Goiânia-GO, a ocorrência de vaginose bacteriana. Utilizaram-se as colorações de Papanicolaou e Gram, com a finalidade de observar a presença de *G. vaginalis* e *Mobiluncus* spp. Além disso, foi realizada a análise bacteriológica convencional através de cultivo para isolamento de *G. vaginalis* e outros microrganismos

prevalentes. Os resultados obtidos na análise convencional foram correlacionados com os possíveis casos de lesões do colo uterino diagnosticados com o auxílio da coloração de Papanicolaou.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho, autorizado pelo hospital mencionado e desenvolvido segundo os preceitos de ética médica, analisaram-se 73 amostras de material cervicovaginal coletado de pacientes e funcionárias do Hospital. Com idades variando entre 17 e 67 anos, todas as pacientes incluídas neste estudo tinham como finalidade exclusiva a prevenção de câncer do colo uterino, sem apresentarem queixa clínica de infecção.

Para a coleta do material destinado ao exame citopatológico, empregaram-se espéculos vaginais esterilizados descartáveis. Foram realizadas, em uma única lâmina, coletas triplíplices das secreções de fundo de saco posterior e da ectocérvice, com o auxílio de espátulas de Ayre (Figura 1). O material do canal endocervical foi colhido com a escovinha (Figura 2). Simultaneamente à coleta da amostra para a citologia, foi preparado o esfregaço em duas ou três lâminas para a coloração de Gram. A amostra do fundo de saco, colhida após a do canal endocervical, foi inoculada em tubos contendo caldo BHI-PRAS. Os tubos foram incubados em uma jarra de anaerobiose à temperatura de 37°C, por um período de 48 a 72 horas. Retirado o espéculo, foram aplicadas sobre ele quatro gotas da solução de KOH (hidróxido de

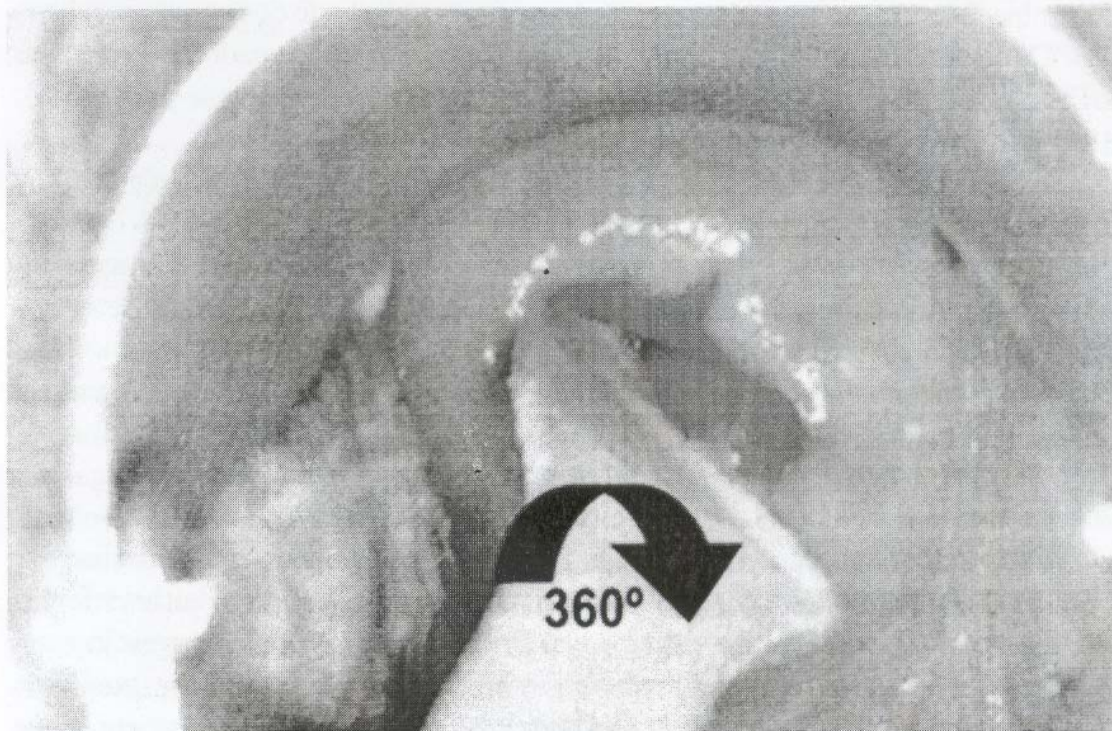


Figura 1. Coleta de secreção vaginal da ectocérvice usando espátula

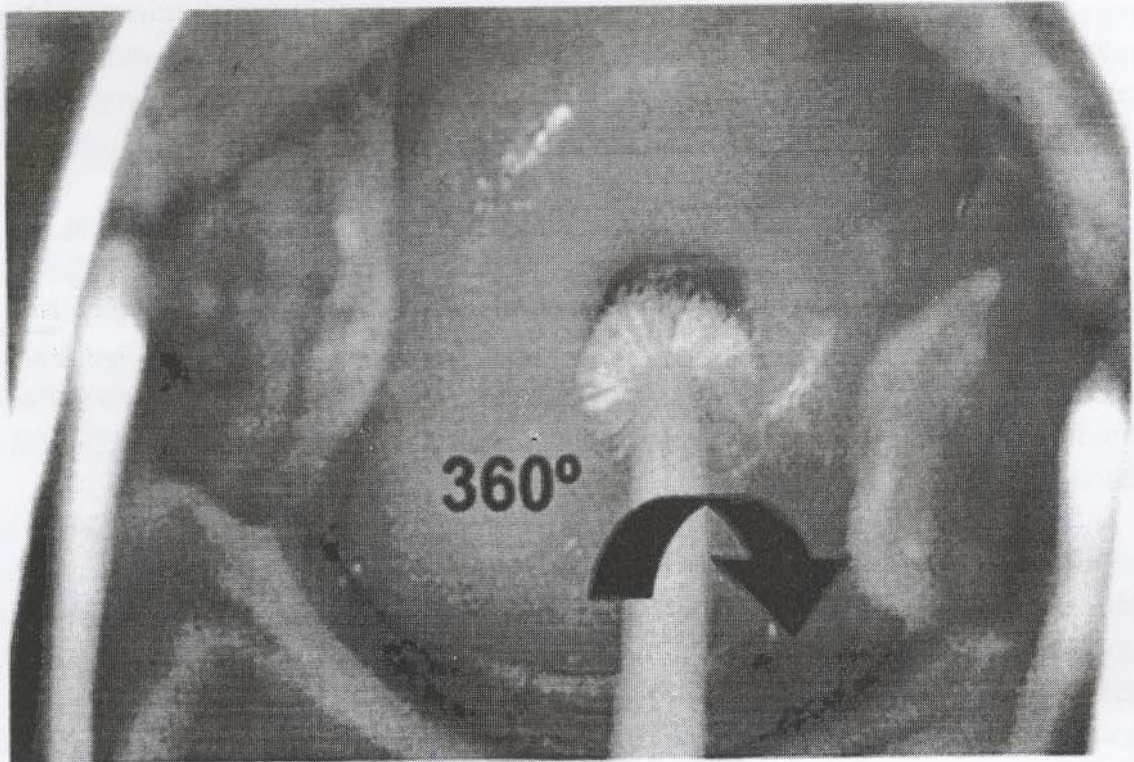


Figura 2. Coleta de secreção vaginal da endocérvice usando escovinha

potássio) a 10%, observando-se a liberação ou não do odor característico mediante a volatilização das aminas putrescina e cadaverina em caso de resultado positivo. Todos os tubos incubados que apresentaram turvação foram repicados em ágar Columbia (Merck) enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro incubado a 37°C por três dias em condição de anaerobiose. As unidades formadoras de colônias (UFCs) que cresceram no ágar Columbia foram repicadas novamente para o caldo BHI e incubadas a 37°C, também em condição de anaerobiose.

Os tubos que apresentaram crescimento em BHI foram repicados para ágar sangue humano a 5% e incubados a 37°C em atmosfera de 5 a 10% de CO₂, por um período de 24 a 48 horas. O crescimento de UFCs beta-hemolíticas pequenas foi considerado sugestivo de *G. vaginalis*. Essas UFCs foram submetidas à coloração de Gram para a observação de cocobacilos ou bacilos curtos pleomórficos Gram-negativos ou Gram-variáveis. As UFCs suspeitas foram semeadas em ágar Columbia inclinado e incubado a 37°C por um espaço de 24 a 48 horas. Evidenciado o seu crescimento, realizaram-se as provas de catalase e oxidase, ambas negativas para *G. vaginalis*.

As amostras que não apresentaram crescimento com beta-hemólise em ágar sangue humano e tiveram os testes de catalase e oxidase positivos foram isoladas em ágar simples inclinado a 37°C por 24 horas. Após o seu crescimento, passaram pela coloração de Gram. Observando-se os cocos Gram-positivos – isolados ou em cachos – catalase positivos, as UFCs foram suspensas em salina

estéril e daí semeadas nos meios seletivos para estafilococos (ágar manitol salgado a 7,5% NaCl, DIFCO). As cepas identificadas como Gram-negativas em bastões ou cocobacilos foram semeadas em ágar MacConkey (DIFCO); as leveduras, em ágar Sabouraud dextrose (Merck), e os bastonetes Gram-positivos, em ágar suco de tomate (tomato juice ágar DIFCO):

Na análise das características morfológicas das colônias, observaram-se seus aspectos macroscópicos e microscópicos, esses últimos, pelo método de Gram. As técnicas de cultivo bacteriano, de identificação e de bioquímica para cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-negativos e leveduras seguiram as orientações técnicas de Koneman et al. (2001).

RESULTADOS

Na Tabela 1, analisando a ocorrência de *G. vaginalis* de acordo com o tipo de método de diagnóstico, pode-se observar uma diferença significativa entre os métodos propostos: o X^2 calculado foi de 6,74, sendo maior que o $X^2_{0.01(1)}$, que é de 6,63. Verifica-se que o método citológico para diagnóstico de *G. vaginalis* é significativamente superior ao método de cultivo convencional. O microrganismo *G. vaginalis* foi detectado tanto na técnica citológica como na cultura.

Tabela 1. Comparação entre dois métodos de diagnóstico de *Gardnerella vaginalis* em 73 mulheres com idades entre 17 e 67 anos, atendidas no Hospital Materno Infantil de Goiânia-GO

Método de diagnóstico	Ocorrência de <i>Gardnerella vaginalis</i>		Total
	+	-	
Citologia	19,0	54,0	73
Cultivo convencional	7,0	66,0	73
Total	26,0	120,0	
X^2	6,74	(P = 0,0094)	

Observou-se que o maior número de casos de vaginose bacteriana, sugerindo infecção por *G. vaginalis*, ocorreu em mulheres com idade entre 27 e 37 anos (Figura 3).

O número de amostras com culturas positivas para *G. vaginalis* na ausência de *clue cells* correspondeu a 4,10% (3/73) dos 73 casos avaliados. Dezenove casos, diagnosticados por meio da citologia e da bacterioscopia, foram sugestivos de vaginose bacteriana. Dentre eles, quatro apresentaram cultura positiva para *G. vaginalis* associada à presença de *clue cells*. Quando se utilizou a coloração de Gram, identificou-se também *Mobiluncus* spp em treze (68,4%) desses casos: cinco amostras de *M. mulieris* e oito de *M. curtisii*.

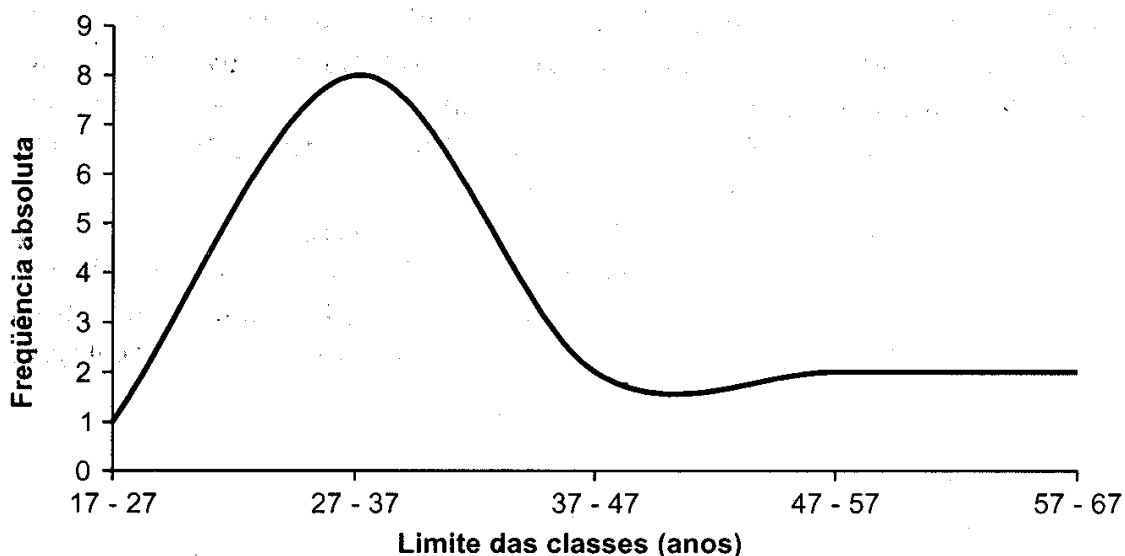


Figura 3. Frequência de alterações em células epiteliais vaginais em mulheres com idades entre 17 e 67 anos, atendidas no Hospital Materno Infantil de Goiânia-GO

Por meio da análise bacteriológica convencional, vários outros microrganismos além de *G. vaginalis* foram isolados nas amostras colhidas no grupo estudado (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição dos principais microrganismos isolados em cultivo convencional em 73 mulheres com idades entre 17 e 67 anos, atendidas no Hospital Materno Infantil de Goiânia-GO

Microrganismos isolados	Nº amostras	% do total de amostras
<i>Staphylococcus coagulase</i> positivos	20	27,4%
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativos (Novobiocina sensível)	10	13,7%
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativos (Novobiocina resistente)	10	13,7%
<i>Escherichia coli</i>	8	10,9%
<i>Klebsiella</i> spp	4	5,4%
<i>Enterobacter</i> spp	8	10,9%
<i>Providencia</i> spp	1	1,4%
<i>Morganella morganii</i>	1	1,4%
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,4%
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	1,4%
<i>Gardnerella vaginalis</i>	7	9,6%
<i>Lactobacillus</i> spp	1	1,4%
<i>Candida</i> spp	1	1,4%
Total	73	100,0%

DISCUSSÃO

O maior número de casos de vaginose bacteriana entre as 73 pacientes avaliadas se deu em mulheres com idade entre 27 e 37 anos. A análise dos dados revela que eles têm uma distribuição assimétrica, sendo mais acentuada a esquerda da curva (Figura 3). Essa prevalência explica-se pelo fato de tais mulheres encontrarem-se em vida sexual ativa, enquadrando-se no chamado grupo de risco.

Todas as amostras coletadas foram submetidas ao teste de KOH com a finalidade de observar a liberação do odor de amina. Os resultados variaram: alguns casos positivos de vaginose bacteriana ao diagnóstico laboratorial apresentaram teste de KOH negativo, do mesmo modo que casos negativos apresentaram-se positivos ao teste de KOH.

O odor característico de amina ocorre tanto na vaginose bacteriana, como na presença de fungos, o que demonstra uma baixa especificidade do método de KOH. Entretanto, esse teste é de suma importância quando associado aos sinais clínicos, ao exame microscópico e ao pH vaginal (Silva Filho & Longatto Filho 2000).

Usando-se a coloração de Papanicolaou, detectou-se vaginose bacteriana em dezenove casos dentre os estudados. Em quatro desses casos, observou-se *G. vaginalis* associada à presença de *clue cells*. Com base nesse achado, sugere-se que outras bactérias também possam eventualmente formar tais células (falsas *clue cells*).

As dezenove amostras positivas para *G. vaginalis* também foram coradas pelo Gram, com a finalidade de verificar a presença/ausência de *Mobiluncus* spp e, nos casos positivos, sugerir as prováveis espécies. Observou-se que, empregando o cultivo convencional, *Staphylococcus* spp constituiu a espécie mais freqüente de microrganismos isolados nos casos de vaginose bacteriana (Tabela 2).

Houve uma diferença altamente significativa entre os dois métodos de análise propostos para detectar e identificar *G. vaginalis*: o citológico e o cultivo convencional. Nota-se, pela Tabela 1, que o primeiro método apresentou maior eficiência no diagnóstico do patógeno. O número de casos isolados de *G. vaginalis* em cultivo convencional foi relativamente baixo: sete casos.

Quanto mais intensa for a presença de *clue cells*, maior será a probabilidade do isolamento de *G. vaginalis* na cultura bacteriológica, o que leva alguns autores a considerar dispensável esse tipo de cultivo em tais casos (Andrade Rocha & Lima E.G. 1992).

Segundo Sobrinho & Bambirra (1992), pelo Gram, é possível identificar e distinguir os morfotipos bacterianos através de suas características: *M. curtisii* é curto e Gram-variável, e *M. mulieris* é mais longo, curvo e concêntrico, forma um semicírculo e é Gram-negativo. Desse modo, segundo os autores, em casos clínicos suspeitos de vaginose bacteriana por *G. vaginalis*, o ideal seria somar aos exames citológicos corados pelo Papanicolaou os de bacterioscopia corados pelo Gram, com a finalidade de detectar as espécies de *curtisii* e *mulieris*.

Neste estudo, nos casos positivos de vaginose bacteriana por *G. vaginalis* avaliados através da citologia, somente foi possível diagnosticar a presença do gênero *Mobiluncus* quando se empregou a objetiva de imersão. Observou-se uma baixa ocorrência de *G. vaginalis* através do Gram, não obstante a proposta de utilizar o método somente para confirmar o diagnóstico de *Mobiluncus*. Além disso, nos dezenove casos sugestivos de vaginose bacteriana avaliados pela citologia e bacterioscopia, pôde-se verificar a prevalência de *M. curtisii*, embora a literatura cite *M. mulieris* como o morfotipo prevalente. Os demais casos (54) não foram avaliados pelo Gram, uma vez que não apresentaram células indicadoras ou *clue cells*, no esfregaço corado pelo Papanicolaou.

Chamou a atenção o fato de que o diagnóstico de *M. curtisii* somente foi possível através da coloração pelo método de Gram, ao passo que os bastonetes sugestivos de *M. mulieris*, mais longos e curvos, são prontamente identificados na citopatologia. Ainda assim todos os casos positivos de *Mobiluncus* spp detectados na citologia pelo Papanicolaou foram confirmados através da bacterioscopia. Esse fato permite afirmar que a coloração de Papanicolaou possui alta especificidade e baixa sensibilidade para o diagnóstico do gênero *Mobiluncus*.

A relevância do estudo das infecções cervicovaginais torna-se evidente. Várias dessas infecções, como a vaginose bacteriana, podem ser assintomáticas. E, quando presentes, os sintomas nem sempre são suficientes para indicar o diagnóstico correto, sendo imprescindível adotar um diagnóstico confiável. Isso ficou evidenciado pela necessidade de empregar sempre a coloração de Papanicolaou associada à coloração de Gram para confirmar a presença de *Mobiluncus* spp.

Ginecologicamente, a vaginose bacteriana está associada com neoplasia intra-epitelial cervical, infecção do trato urinário, sépsis pós-aborto e pós-histerectomia, e doença inflamatória pélvica (Lammont et al. 1995).

Em razão da insuficiência do número de amostras avaliadas, não foi possível estabelecer um provável comprometimento das células epiteliais do colo uterino por *G. vaginalis*.

CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a faixa etária de 27 a 37 anos foi a que apresentou maior número de episódios de vaginose bacteriana e que a frequência da infecção foi de 26,0%.

A associação dos métodos de citologia (Papanicolaou) e bacterioscopia (Gram) permite um diagnóstico sugestivo de vaginose bacteriana. Através da coloração de Papanicolaou, verificam-se as espécies de *G. vaginalis*, e, por meio da bacterioscopia, observa-se o gênero *Mobiluncus*. No segundo caso, a possível confirmação é feita, também, pelo cultivo convencional.

Os dados obtidos não foram suficientes, quantitativamente, para estabelecer qualquer correlação entre os resultados do cultivo convencional e os casos de lesões do colo uterino detectados através do Papanicolaou.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Maurício Guilherme Campos Viggiano, do Hospital Materno Infantil de Goiânia, pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

ABSTRACT

Diagnosis of vaginosis in asymptomatic women referred to Materno Infantil Hospital of the city of Goiânia, state of Goiás, from February to March, 2001

The objective of this study was to verify the occurrence of bacterial vaginosis in a public hospital of the city of Goiânia, state of Goiás. Papanicolaou smear and Gram stain were carried out with the specific aim of detecting the presence of *Mobiluncus* spp. The isolation and identification of *Gardnerella vaginalis* and others prevalent microorganisms were attempted, correlating the obtained results with possible cases of cervical lesions diagnosed by Papanicolaou smear. The cytologic Papanicolaou evaluation and conventional vaginal culture were performed in 73 patients for identification of the prevalent microbiota. From the total of patients, 19 (26%) presented results suggestive of bacterial vaginosis and the specimen was also analyzed by bacterioscopy – Gram stain. The other 54 (73,9%) showed in cytologic evaluation microbiota not suggestive of bacterial vaginosis. In the absence of *clue cells*, all samples were submitted to culture analysis, independently of the result presented by cytology.

KEYWORDS: *Gardnerella vaginalis*. *Mobiluncus* spp. . Bacterial vaginosis.

REFERÊNCIAS

1. Andrade-Rocha FT, Lima EG. Secreção vaginal: isolamento de *Gardnerella vaginalis* e sua associação com a pesquisa de clue cells e com a contagem de leucócitos polimorfonucleares. *J Bras Ginecol* 102: 345-348, 1992.
2. Biswas MK. Bacterial vaginosis. *Clin Obstet Gynecol* 36: 166-176, 1993.
3. Chen KCS, Amsel R, Escheenach DA, Holmes KK. Biochemical diagnosis of vaginitis: determination of diamine in vaginal fluid. *J Infect Dis* 145: 337, 1982.
4. Easman CSF. Bacterial vaginosis. In: *Recent advances in sexually transmitted diseases*. Livingstone, Ed. Churchill Livingstone, 1986.
5. Eschenbach DA, Davick P, Williams BL, Klebanoff SF and Young-Smith K. Prevalence of hydrogen peroxidase-producing lactobacillus species in normal women and women with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 27:251-256, 1989.
6. Ito IY, Costa A, Baracchini O. Emprego de gema de ovo no isolamento de *Staphylococcus*. *Ann Microbiol* 16: 189-192, 1969.

7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC. *Diagnóstico Microbiológico*. Ed. Medsi, 5ª edição; Rio de Janeiro, 2001.
8. Kurtzman CP & Fell WJ. *The Yeast, A taxonomic study*. Fourth edition, Elsevier, 1998.
9. Lammont RF, Rose M, Elder MG. Effect of bacterial products on prostaglandin E production by amnion cell. *J Clin Microbiol* 11: 1331-1333, 1995.
10. Nugent RP, Krohn MA, Killier SL. Reliability of diagnosis of bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 29: 297-301, 1991.
11. Paavonen J. Physiology and ecology of vagina. *Scand J Infect. Dis* 40(Suppl): 31-35, 1983.
12. Paim OFJ, Dirlene LF & Cavalvante AA. Importância da detecção de *Mobiluncus* spp nas gardnereloses resistentes ao tratamento com metronidazol. *J Bras Ginec* 103: 99-102, 1993.
13. Priestley CJ, Kinghorn GR. Bacterial vaginosis. *Br J Clin Pract* 50: 333-334, 1996.
14. Raso P, Tafuri LW. *Gardnerella vaginalis*: sua freqüência em 100.000 exames citológicos cérvico-vaginais em Belo Horizonte, Minas Gerais. *J Bras Ginecol* 102: 173-177, 1992.
15. Sperber WH & Tatini SR. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *S. aureus*. *Applied Microbiology* 29: 502-505, 1975.
16. Silva Filho AM & Longatto Filho A. *Colo uterino e Vagina – Processos Inflamatórios*. Ed. Revinter; Rio de Janeiro, 2000. p.78-79.
17. Sobrinho CJM & Bamberra AE. Contribuição para o estudo etiológico das vaginoses bacterianas. *Rev Bras An Clinicas* 24: 31-34, 1992.
18. Thomason JL, Gelbart SM, Scaglione NJ. Bacterial vaginosis : Current review with indications for asymptomatic therapy. *Am J Obstet Gynecol* 165:1210-1217, 1991.