

Microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de Diabetes Mellitus tipo 2

Vaginal flora in post-menopausal, asymptomatic women with and without type 2 Diabetes Mellitus

Helena Yuri Kurimori¹, Sônia Maria Rolim Rosa Lima², Karen Yumi Tamura¹, Silvia Saito Yamada³,
Alessandra Navarini⁴, Suely Mitoi Ykko Ueda⁵

Resumo

Objetivos: Comparar a microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, diabéticas e não diabéticas. **Método:** Participaram do estudo 83 mulheres, sendo 35 portadoras Diabetes Mellitus tipo 2 (Grupo I) e 48 não diabéticas (Grupo II). Foi realizada coleta de secreção vaginal do fundo de saco de Douglas com auxílio de um swab, transportada em meio Stuart e encaminhada para análise. **Resultados:** Os microrganismos encontrados foram agrupados de acordo com a morfologia. Ao comparar a microbiota vaginal das diabéticas vs. não diabéticas, observou-se crescimento de cocos Gram positivos 71,42% vs. 70,83%, bacilos Gram positivos 25,71% vs. 6,25%, bacilos Gram negativos Enterobacterias 40% vs. 43,75%, bacilo Gram negativos não fermentadores de glicose 2,85% vs. 6,25%, anaeróbios 5,71% vs. 8,33% e fungos 20% vs. 12,50%. As principais espécies encontradas foram analisadas individualmente. Comparando-se a microbiota vaginal de diabéticas vs. não diabéticas, observou-se crescimento

de *Candida sp* 20% vs. 8,33%, *E. coli* 34,28% vs. 25%, *S. aureus* 17,14% vs. 29,16% e *Enterococcus sp* 28,57% vs. 22,91%. Houve diferença significativa de bacilos Gram positivos nas mulheres diabéticas. **Conclusão:** Foi observada maior prevalência de bacilos Gram positivos nas mulheres diabéticas, com diferença significativa.

Descritores: Pós-menopausa, Envelhecimento, Diabetes Mellitus tipo 2, Vagina/microbiologia

Abstract

Aims: To compare the vaginal flora in post-menopausal, asymptomatic, diabetic and non-diabetic women. **Methods:** A total of 83 women took part: Group I: n=35 (type 2 Diabetes Mellitus) and Group II: n=48 (controls). Vaginal secretions were collected from the bottom of the pouch of Douglas using swabs, transported in Stuart medium and sent for analysis. **Results:** The micro-organisms found were grouped according to morphology. Comparison of vaginal flora from Groups I and II revealed higher Gram-positive coccus 71.42% vs 70.83%, Gram-positive bacilli 25.71% vs. 6.25%, Gram-negative bacilli enterobacteria 40% vs. 43.75%, non-glucose fermenting Gram-negative bacilli 2.85% vs. 6.25%, anaerobes 5.71% vs. 8.33% and fungi 20% vs. 12.50%. The difference in Gram-positive bacilli of Group I compared to Group II women was statistically significant. Comparison of vaginal flora in Group I vs. Group II showed higher *Candida sp* 20% vs 8.33%, *E. coli* 34.28% vs. 25%, *S. aureus* 17.14% vs. 29.16%, and *Enterococcus sp* 28.57% vs. 22.91%. **Conclusion:** A higher prevalence of Gram positive bacilli was detected in diabetic women, reaching a statistically significant difference.

Key words: Postmenopause, Aging, Diabetes Mellitus type 2, Vagina/microbiology

Introdução

A flora bacteriana vaginal, associada à presença

1. Médica formada na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
2. Professora Adjunta da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Obstetrícia e Ginecologia
3. Mestre em Medicina (Tocoginecologia) pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
4. Professora Instrutora da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas
5. Professora Assistente da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas
Trabalho realizado: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia e Departamento de Ciências Patológicas

Comitê de Ética em Pesquisa: Iniciação Científica. Processo: 432/09

Auxílio à pesquisa: PIBIC

Endereço para correspondência: Helena Yuri Kurimori. Rua Doutor Cesário Mota Junior, 112 – Vila Buarque – 01221-020 - São Paulo – SP – Brasil. Telefone: 11 21767000. E-mail: hykurimori@yahoo.com.br

de diversos componentes da imunidade inata e adquirida, constituem importante mecanismo de defesa para evitar a invasão e proliferação de patógenos microbianos nos locais expostos ao meio ambiente externo⁽¹⁾.

A microbiota é considerada comensal, e seu principal componente é o *Lactobacillus* spp. (lactobacilos aeróbios e anaeróbios), mas também apresenta, com frequência significativa, *Peptococcus* spp, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium vaginale*, *Candida albicans*, *Bacteroides* spp, *Eubacterium* spp, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp, dentre outros microrganismos, os quais podem aumentar muito caso haja diminuição dos lactobacilos e, eventualmente, vir a favorecer infecções secundárias^(2,3). Há mulheres cujo ecossistema normal não é mantido pelos lactobacilos, mas por outras bactérias como *Atopobium vaginae*, *Atopobium*, *Megasphaera* e *Leptotrichiaco*, também produtoras de ácido lático⁽¹⁾.

Os lactobacilos formam um biofilme natural revestindo toda a mucosa, inibindo a adesão, crescimento e proliferação de outros microrganismos estranhos ao meio vaginal⁽⁴⁾. Esses bacilos tem efeito protetor contra os patógenos estranhos ao meio, devido a manutenção do pH vaginal ácido, que limita o crescimento de estreptococos, anaeróbios e *Gardnerella vaginalis*⁽⁵⁾.

A colonização vaginal por lactobacilos sofre influência da ação estrogênica nesses tecidos, portanto sua concentração muda de acordo com as diferentes fases da vida da mulher. Durante a menarca, a microbiota vaginal é constituída por 85 a 90% de lactobacilos. Já nas mulheres após a menopausa, a microbiota vaginal normal tem seu equilíbrio mantido com cerca de 62% desses bacilos^(6,7).

Ocorre também na menopausa, devido ao hipotrofenismo, uma redução das camadas epiteliais bem como da mucosa vaginal, predispondo à aquisição de fissuras e escoriações, que podem servir de porta de entrada para fungos e bactérias⁽⁸⁾.

Além da menopausa, existem vários outros fatores predisponentes das infecções vaginais como o *Diabetes Mellitus* (DM). Quando a glicemia não está controlada podem ocorrer alterações metabólicas como o aumento dos níveis de glicogênio, facilitando o surgimento de colonização e infecção por *Candida* sp., a morbidade mais comum^(9,10).

Apesar da existência de inúmeros artigos publicados sobre infecções em pacientes diabéticos, há poucos trabalhos que mostrem a relação entre o DM e a alteração da microbiota vaginal em mulheres após menopausa. À medida que se conhece melhor o padrão epidemiológico e os fatores de risco das infecções que acometem os pacientes diabéticos, haverá argumentos para planejar estratégias mais adequadas de combate às infecções⁽¹⁾.

Objetivo

Analisar comparativamente a microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de *Diabetes Mellitus* tipo 2.

Casuística e Métodos

Foi realizado estudo prospectivo de análise da flora vaginal de mulheres após a menopausa atendidas no Serviço de Ginecologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Centro de Saúde Escola da Barra Funda. Os critérios de inclusão foram mulheres após a menopausa⁽¹¹⁾, sem sintomas genito-urinários. Foram excluídas do estudo pacientes virgens. As pacientes foram divididas em dois grupos: portadoras de DM⁽¹²⁾ (grupo 1) e não portadoras de DM (grupo 2).

Após assinatura do termo de consentimento livre e informado, as pacientes responderam a questionário sobre identificação, perfil sócio-demográfico, comportamento e histórico médico. Em seguida, foram submetidas à coleta de secreção vaginal conforme normas da Ginecologia e da Microbiologia. As mulheres selecionadas estavam despidas de suas roupas íntimas inferiores, na posição ginecológica devidamente cobertas com lençol descartável. Sob foco de luz artificial direta a uma distância de 20 cm da paciente, foi utilizado espéculo de Collins descartável e esterilizado, de tamanho adequado conforme a paridade e permeabilidade vaginal. O espéculo foi introduzido em direção a parede posterior da vagina, delicadamente, de forma que não traumatizasse a uretra, utilizando-se soro fisiológico 0,9% como único material lubrificante sendo aberto até visualização do colo uterino e fundo de saco de Douglas. A amostra de secreção vaginal foi retirada do fundo de saco de Douglas com auxílio de um *swab*, em seguida foi colocado dentro do tubo com meio de *Stuart* e lacrado. Todo o material permaneceu em geladeira até ser enviado para exame.

O material coletado foi analisado no Laboratório de Microbiologia do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar e da FCMSCSP. O material foi semeado em meio de Agar sangue e *Anaerinsol* – *Probac*® e incubados em jarras de anaerobiose durante 72h.; em meio de *Sabouraud* incubadas durante 15 dias; em meio de Agar sangue, Agar chocolate e *MacConkey* incubadas durante 24h e 48h. O crescimento de colônias de microrganismos era considerado como positivo e a seguir era feita a identificação da espécie através da coloração de Gram para a identificação dos grupos de microrganismos e em seguida a série bioquímica para a identificação da espécie⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Foi utilizado EPI-INFO versão 6.0 para digitação e análise estatística. Para análise de dados não-pareados,

foi utilizado o teste Qui-quadrado, com nível de significância de 0,05.

Resultados

Participaram do estudo 83 mulheres, sendo que dessas 35 (42,16 %) eram portadoras de DM (Grupo 1) e 48 (57,83%) não tinham DM (Grupo 2). Todas as mulheres estavam no período após a menopausa, apresentando uma idade média de 57,2 anos (Intervalo de Confiança (IC): 4,85) as do Grupo 1 e 56,15 anos (IC: 6,18) as do Grupo 2 sem queixas e sintomas genito-urinários. Em ambos os grupos observou-se predomínio da raça branca, religião católica, ensino médio incompleto e Índice de Massa Corpórea (IMC) médio acima de 25 (Tabela 1).

Em relação à microbiota vaginal do Grupo 1 vs. Grupo 2, observou-se crescimento bacteriano de Cocos Gram Positivos 71,42% vs. 70,83%, Bacilos Gram Positivos 25,71% vs. 6,25%, Bacilos Gram Negativos Enterobacterias 40% vs. 43,75%, Bacilo Gram Negativo Não Fermentadores de Glicose 2,85% vs. 6,25%, Anaeróbios 5,71% vs. 8,33% e Fungos 20% vs. 12,50% (Gráfico 1).

A composição da microbiota vaginal de mulheres diabéticas apresentou maior prevalência de Bacilos Gram Positivos (BGP) do que em mulheres não diabéticas (25,71% VS. 6,25%), sendo este resultado

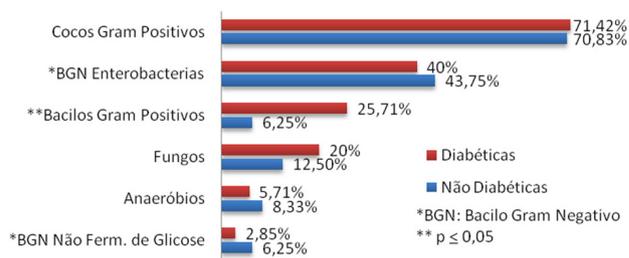


Gráfico 1 - Microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de *Diabetes mellitus*. FCMSCSP, 2010.

estatisticamente significativo (Qui-quadrado 6,20; 1GL; p=0,012).

Os BGP encontrados foram os não esporulados (diabéticas: 10/35=28,6%, não diabéticas 1/48=2,08%) e *Bacillus subtilis* (esporulado) (diabéticas: 0, não diabéticas: 1/48=2,08%). Entre os BGP não esporulados foi possível identificar apenas *Corynebacterium sp*, sendo que 4/35=11,4% das diabéticas e 1/48=2,08% das não diabéticas apresentavam essa bactéria. Outras bactérias que compõem o grupo dos BGP não esporulados são *Listeria monocytogenes*, *Micobactérias*, *Nocardia*.

Foi analisada a porcentagem de alguns microrganismos patogênicos em particular devido citações em bibliografia pesquisada. No grupo 1 foi encontrado

Tabela 1

Características de mulheres após a menopausa diabéticas e não diabéticas. FCMSCSP, 2010

Características	Diabéticas (n=35)		Não diabéticas (n=48)		Total (n=83)	
	No.	%	No.	%	No.	%
Idade (média)	35	57,33	48	56,15	83	
Raça						
Branca	16	45,71	23	47,91	39	46,98
Parda	10	28,57	12	25	22	26,50
Negra	5	12,28	6	12,5	11	13,25
Sem informação	4	11,42	7	14,58	11	13,25
Religião						
Católico	17	48,57	27	56,25	44	53,01
Evangélico	12	34,28	11	22,91	23	27,71
Outra	3	8,57	2	4,16	5	6,02
Sem informação	3	14,28	8	16,66	11	13,25
Escolaridade						
Sem estudo			1	2,08	1	1,20
Fund. incompleto	16	45,71	19	39,58	35	42,16
Fund. completo	8	22,85	8	16,66	16	19,27
Médio incompleto	1	2,85	2	4,16	3	3,61
Médio completo	5	14,28	8	16,66	13	15,66
Superior incompleto	0	0	2	4,16	2	2,40
Superior completo	2	5,71	3	6,25	5	6,02
Sem informação	3	8,57	5	10,41	8	9,63

20% de *Candida sp*, 34,28% de *E. coli*, 17,14% de *S. aureus*, 28,57% de *Enterococcus sp* e 34,28% de *S. coagulase negativa*. Já no grupo 2 foi observado 8,33% de *Candida sp*, 25% de *E. coli*, 29,16% de *S. aureus*, 22,91% de *Enterococcus sp* e 16,66% de *S. coagulase negativa* (Gráfico 2). Em nenhum desses microrganismos foi observada diferença estatisticamente significativa entre as duas populações pesquisadas.

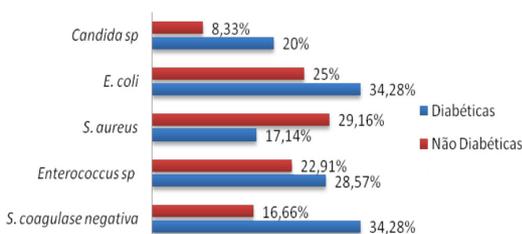


Gráfico 2 – Microorganismos patogênicos encontrados em mulheres após menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de *Diabetes mellitus*. FCMSCSP, 2010.

Discussão

O presente estudo procurou analisar comparativamente a microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de *Diabetes Mellitus* tipo 2.

Observou-se uma pequena diferença quanto a composição da microbiota vaginal de mulheres diabéticas e não diabéticas. Dentre as bactérias e fungos encontrados nas amostras de secreção vaginal, houve diferença significativa somente de BGP. No grupo dos BGP podemos citar *Corynebacterium sp*, *Diphtheroids* e *Lactobacillus sp*, que raramente causam infecção pélvica. Nossos resultados se assemelham aos relatados em estudo relacionando microbiota vaginal a bacteriúria em diabéticas e não diabéticas, no qual não houve prevalência de organismos potencialmente patogênicos nas pacientes diabéticas, mesmo quando o controle da DM era inadequado⁽¹⁶⁾.

Estudos mostram que BGP e os coliformes são os microorganismo mais comumente isolados em mulheres após a menopausa, substituindo os *Lactobacillus* protetores. Afirmam também que, apesar dessa mudança de microbiota e o aumento do pH vaginal, as mulheres após a menopausa apresentam um baixo risco de desenvolver vaginose bacteriana⁽⁶⁾.

A maior prevalência de BGP no Grupo 1 poderia estar relacionada ao fato de que mulheres diabéticas apresentam alterações metabólicas como o aumento da concentração sérica de glicogênio, facilitando a colonização por esses microorganismos. De fato, foi relatado o encontro de uma quantidade de glicogênio vaginal aumentada em mulheres diabéticas^(9,10).

Apesar de não encontrarmos relevância estatisticamente

significante com relação a colonização por *Cândida*, observamos uma maior incidência deste agente nas mulheres diabéticas (20,0% vs. 8,33%). Esse achado assemelha-se ao de autores que relatam haver uma maior incidência de candidíase vulvovaginal em mulheres diabéticas e que geralmente, a candidíase vulvovaginal se desenvolve quando o pH vaginal diminui devido ao aumento da quantidade de glicogênio⁽¹⁷⁾. Porém em estudos mais recentes, a predisposição a candidíase vulvovaginal encontra-se aumentada apenas em mulheres com diabetes descompensado, fato este não analisado em nosso estudo⁽¹⁸⁾.

Também não se observou diferença estatisticamente significativa entre os Grupos com relação a colonização por *E.coli*. Entretanto observamos uma incidência de 34,28% de colônias em mulheres diabéticas, valor muito semelhante ao encontrado em outro estudo no qual 39% das mulheres apresentavam episódio prévio de infecção do trato urinário (ITU) com urocultura positiva acima de 10⁵ufc/ml para bactéria uropatogênica⁸. Há relatos de mulheres na pré menopausa assintomáticas com ITU recorrente que apresentavam uma porcentagem de 35% de colonização por essa bactéria⁽¹⁹⁾.

Sabemos que o presente estudo não representa uma amostra fidedigna da população já que foi composta principalmente por mulheres da raça branca, religião católica e ensino médio incompleto. Entretanto pudemos, além de observar uma maior prevalência de BGP nas mulheres diabéticas levantar questionamentos como analisar comparativamente a microbiota vaginal de mulheres diabéticas com e sem sintomas ou queixas genito-urinárias, investigar a relação entre o grau de compensação do diabetes (hemoglobina glicosilada, glicemia de jejum, tempo de diagnóstico, medicações em uso) com alterações sofridas pela microbiota vaginal e o risco de desenvolver infecções genito-urinárias.

O estudo da flora vaginal tem especial interesse visto suas alterações ser motivo de alta prevalência de queixas em ambulatório de ginecologia. Esperamos que os resultados aqui demonstrados possam contribuir para o entendimento do tema despertando interesse para futuros estudos.

Referências Bibliográficas

1. Linhares IM, Giraldo PC, Baracat EC. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. Rev Assoc Med Bras. 2010; 56:370-4.
2. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation independent methods. Microbiology. 2004; 150:2565-73.
3. Silvino MCM, Giraldo PC, Vicentini RMR, Eleutério Júnior J. Microbiota vaginal no pré e pós-operatório de cirurgias ginecológicas. DST J Bras Doenças Sex Transm. 2006; 18:168-71.

4. Lepagneur JP, Rousseau V. Rôle protecteur de la flore de Doderlein. *J. Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2002; 31: 485-94.
5. Giraldo PC, Passos MRL, Bravo R, Varella RQ, Campos WNA, Amaral RL, et al. O freqüente desafio do entendimento e do manuseio da vaginose bacteriana: [revisão]. *DST J Bras Doenças Sex Transm*. 2007; 19:84-91.
6. Cauci S, Driussi S, De Santo D. Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal microbiota changes in peri and postmenopausal women. *J. Clin Microbiol*. 2002; 40:2147-2152.
7. Pabish WL, Fihn SD, Stamm VE. Prevalence and determinants of vaginal microbiota alterations in postmenopausal women. *J Infect Dis*. 2003; 188: 1054-8.
8. Gonçalves AKS. Mecanismos de defesa vaginal. In: Martins NV, Ribalta JCL (eds). *Patologia do trato genital inferior: diagnostico e tratamento*. São Paulo: Roca; 2005. p. 107-221.
9. Holanda AAR, Fernandes ACS, Bezerra CM, Ferreira MAF, Holanda MRR, Holanda JCP, et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007; 29: 3-9.
10. Donders GG. Lower Genital Tract Infections in Diabetic Women. *Curr Infect Dis Rep*. 2002; 4(6):536-539.
11. The North American Menopause Society. *Menopause practice: a clinician's guide*. Cleveland (Ohio): NAMS; 2007.
12. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care*. 2010; 33(Suppl 1):S11-61.
13. NCCLS. *Clinical Laboratory Technical Procedure Manuals*. 4th ed. Approved Guideline GP2-A4. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
14. Caplan MJ, Koontz FP. *Postmortem microbiology*. In: McCurdy BW (Coord.) *Cumitech 35*. Washington (DC): ASM Press; 2001. p. 14-37.
15. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos básicos em microbiologia*, São Paulo: Sarvier; 2004.
16. Williams DN, Knight AH, King H, Harris DM. The microbial flora of the vagina and its relationship to bacteriuria in diabetic and non-diabetic women. *Br J Urol*. 1975; 47:453-7.
17. Reed BD. Risk factor for *Candida* vulvovaginitis. *Obstet Gynecol Surv*. 1992; 47:551-60.
18. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007; 369:1961-71.
19. Gupta K, Stapleton AE, Hooton TM, Roberts PL, Fennell CL, Stamm WE. Inverse association of H₂O₂ producing lactobacilli and vaginal *E. coli* colonization in women with recurrent urinary tract infections. *J Infect Dis*. 1998; 178:446-50.

Data de recebimento: 02/07/2013

Data de aprovação: 12/08/2013