



Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz

Luis Buscemi², Alicia Arechavala¹ y Ricardo Negróni¹

¹Unidad Micología y ²Unidad Bacteriología, Hospital de Infecciosas Francisco Javier Muñiz, Buenos Aires, Argentina

Resumen

Se presentan los resultados del estudio microbiológico de muestras de flujo vaginal de 749 pacientes realizado en la Unidad Bacteriología del Hospital Francisco Javier Muñiz de Buenos Aires en un período de 12 meses (2001 a 2002). Todas las pacientes eran adultas, con edades comprendidas entre los 17 y 52 años, sexualmente activas y padecían síntomas de vulvovaginitis aguda; 334 eran VIH-positivas. Se obtuvieron los siguientes resultados: *Lactobacillus* spp 50,6%, *Gardnerella vaginalis* 25,6%, *Candida* spp 17,4%, *Trichomonas vaginalis* 5,3%, *Neisseria gonorrhoeae* 0,3% y *Streptococcus* grupo B 0,8%. En las mujeres VIH-positivas se comprobó una mayor incidencia de *Candida* spp (21,6% vs 14,0%; p = 0,0086) y menor, aunque no estadísticamente significativa, de tricomoniasis (3,6% vs 6,7%; p = 0,0810). Las especies de *Candida* aisladas fueron las siguientes: *Candida albicans* 76,8%, *Candida glabrata* 15,9%, *Candida parapsilosis* 2,9%, *Candida tropicalis* 1,5% y *Candida krusei* 0,7%. Se detectaron ocho infecciones (6,2%) por dos especies de *Candida* (*C. albicans* y *C. glabrata*) y tres casos (2,17%) de vaginitis por *Saccharomyces cerevisiae*. En cinco casos hubo infección mixta, *Candida* spp + *Trichomonas vaginalis* (tres) y *Candida* spp + *Gardnerella vaginalis* (dos). Consideramos como dignos de destacar los siguientes hallazgos de este estudio: 1) la mitad de las pacientes con vulvovaginitis no presentó una biota microbiana patológica; 2) la incidencia de candidiasis vaginal fue significativamente mayor en mujeres VIH-positivas; 3) observamos una alta incidencia de *C. glabrata* (15,9%); 4) un 6,2% de candidiasis fue producido por *C. albicans* y *C. glabrata*; y 5) la mayoría de cepas de *C. albicans* fue sensible a fluconazol (CMI₅₀=0,5 µg/ml), en tanto que las cepas de *C. glabrata* fueron sensibles dosis-dependiente (CMI₅₀ y CMI₉₀=32 µg/ml).

Palabras clave

Vulvovaginitis, Candidiasis vaginal, Tricomoniasis, Vaginitis bacteriana, Fluconazol, Infección VIH

Dirección para correspondencia:

Dr. Ricardo Negróni
Unidad Micología
Hospital F.J. Muñiz
Uspallata 2272
(1282) Buenos Aires
Argentina
Fax: +54 11 4304 4655
Correo electrónico: hmmicologia@intramed.net

Aceptado para publicación el 4 de noviembre de 2004

Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of the Francisco J. Muñiz Infectious Diseases Hospital

Summary

The results of microbiological vaginal secretions samples obtained from 749 women (from July 2001 to July 2002) were studied in the Bacteriology Unit of the Francisco Javier Muñiz Hospital from Buenos Aires. All patients suffered acute vulvovaginitis were child bearing and sexually active women, 334 of them were HIV-positive.

The following are the results of the microbiological studies:

Lactobacillus spp 50.6%, *Gardnerella vaginalis* 25.6%, *Candida* spp 17.4%, *Trichomonas vaginalis* 5.3%, *Neisseria gonorrhoeae* 0.3% and B group *Streptococcus* 0.8%. *Candida* vaginitis was significantly more frequent in HIV-positive patients, (21.6% vs 14%; $p = 0.0086$); meanwhile, trichomoniasis was less common although the difference was not statistically significant (3.6 vs 6.7%, $p = 0.0810$).

The following *Candida* species were isolated in this study:

Candida albicans 76.8%, *Candida glabrata* 15.6%, *Candida parapsilosis* 2.9%, *Candida tropicalis* 1.5% and *Candida krusei* 0.7%. Eight cases (6.2%) of vaginitis were produced by two *Candida* species (*C. albicans* and *C. glabrata*), and in three cases (2.17%) *Saccharomyces cerevisiae* were isolated. Five women suffering acute vaginitis with *Candida* spp presented another etiologic agent of vaginal infection, three cases *T. vaginalis* and two cases *G. vaginalis*. The following are some of the most important findings of this study: 1) Half of the patients presented a normal microbial biota; 2) *Candida* spp vaginitis was significantly more frequent among HIV-positive women; 3) we observed a high incidence of *Candida glabrata* infections (15.9%), 4) 6.2% of vaginal candidiasis were caused by more than one *Candida* species and, 5) the susceptibility pattern of *C. albicans* and *C. glabrata* isolates against fluconazole was similar to the one observed in other studies. The majority of *C. albicans* isolates were susceptible to fluconazole ($MIC_{90}=0.5 \mu\text{g/ml}$) meanwhile *C. glabrata* strains were much less susceptible to this drug (MIC_{50} and $MIC_{90}=32 \mu\text{g/ml}$).

Key words

Acute vaginitis, Vaginal candidiasis, Trichomoniasis, Bacterial vaginosis, Fluconazole, HIV infection

Las vulvovaginitis agudas son una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica. Estas infecciones se distribuyen en tres grupos dependiendo de los agentes bacterianos que las producen: la vaginosis bacteriana inespecífica, producida por la asociación entre *Gardnerella vaginalis*, microorganismos anaerobios y *Mycoplasma* spp (complejo GAM); vulvovaginitis candidiásica ocasionada por *Candida albicans* y otras especies del género y la tricomoniasis vaginal, producida por *Trichomonas vaginalis* [8,15,29]. Las manifestaciones clínicas de estas infecciones son bastante similares y carecen de signos o síntomas patognomónicos, razón por la cual el diagnóstico basado exclusivamente en el examen clínico tiene muchas causas de error [5,22,28]. El abordaje correcto de estas infecciones debe basarse en un prolijo examen clínico y la determinación del agente causal mediante el examen microbiológico.

La candidiasis vulvovaginal se cuenta entre las patologías más frecuentes del tracto genital inferior femenino. Es la segunda causa en orden de frecuencia de vulvovaginitis en la mujer adulta en edad fértil. Las estadísticas de los EE.UU. señalan que aproximadamente el 75% de las mujeres sufre al menos un episodio de candidiasis vulvovaginal durante el lapso que media entre la menarca y la menopausia. El 40% de las mismas tienen más de un episodio y menos del 5% padecen candidiasis vulvovaginal recurrente, que se define como cuatro o más episodios documentados de vulvovaginitis por *Candida* spp en un periodo de 12 meses [3,5,11,25].

Se trata de una infección estrógeno-dependiente, cuya frecuencia de presentación depende de múltiples factores: diabetes, tratamiento inmunosupresor, tratamiento antibiótico, estado inmunitario, hábitos de higiene, anticonceptivos orales, uso de ropa interior de fibras sintéticas, etc. [2,5,11,21,25]. Sin embargo, la mayor parte de las recaídas se producen como consecuencia de la disminución de la inmunidad local de la vagina [10, 16, 27, 31].

Se considera que la principal fuente de infección es endógena por colonización rectal y de la piel perineal. La portación asintomática de *Candida* spp se observa en el 10 al 20% de las mujeres en edad fértil, con una mayor proporción de portadoras en las regiones de clima tropical o subtropical y en personas que ingieren dietas ricas en carbohidratos y frutas [11,15]. Si bien no es considerada una infección de transmisión sexual, hasta un 20% de las parejas de mujeres con candidiasis vaginal son portadoras de la misma cepa de *Candida* spp en el surco balano-prepucial [25,28].

Los objetivos de este estudio fueron: 1) Determinar la frecuencia de las distintas causas de vulvovaginitis aguda en una población de mujeres en edad fértil, sexualmente activas, con serología positiva o negativa para el VIH. 2) Observar la presencia de una o más especies de *Candida* en cada muestra. 3) Estudiar la sensibilidad a fluconazol (antifúngico de uso sistémico habitualmente empleado en el tratamiento de la candidiasis vaginal) de las cepas aisladas.

Materiales y métodos

Muestras clínicas analizadas. Se analizaron 749 muestras de exudado vaginal y exudado endocervical, de otras tantas mujeres, sexualmente activas, con edades comprendidas entre 17 y 52 años, en el período de julio de 2001 a julio de 2002. Todas las pacientes fueron derivadas del Servicio de Ginecología o del de Enfermedades de Transmisión Sexual (Dermatología) y habían sido previamente examinadas desde el punto de vista clínico por especialistas que habían comprobado manifestaciones clínicas de vulvovaginitis aguda (prurito, aumento del flujo vaginal, congestión de la mucosa y edema). La extracción de las muestras clínicas fue efectuada en la Unidad Bacteriología por uno de los autores (L.B.).

La serología para VIH se determinó por el método de ELISA (HIV-1/HIV-2 Ab-capture 3rd. Generation Ortho, Johnson & Johnson, EE.UU.) y fue confirmada por la técnica de Westernblot (Bioblot HIV-1 Biokit, EE.UU.) [7]. Trescientas treinta y cuatro pacientes presentaron serología positiva y 415 serología negativa.

Recolección y procesamiento de muestras clínicas. Se colocó un espéculo desechable y se obtuvieron dos muestras clínicas con hisopos estériles, una de fondo de saco vaginal y la segunda proveniente de endocérnix para el estudio específico de *Neisseria gonorrhoeae*. Con el hisopo obtenido de fondo de saco vaginal se efectuó una preparación para examen en fresco, para la visualización de pseudohifas y blastoconidias de *Candida* spp y observación de trofozoitos móviles de *T. vaginalis*. También se examinaron frotis teñidos por el método de Gram para observación de la biota bacteriana y pseudohifas de *Candida* spp y con tinción de Giemsa para descubrir formas inmóviles de *T. vaginalis*. Con esta muestra clínica se determinó además el pH y se realizó la prueba de Whiff (*fishy-odor*). Los criterios seguidos para el diagnóstico de vaginosis bacteriana fueron: flujo homogéneo, positividad de la prueba de Whiff, presencia de *clue cells* en el examen microscópico y pH vaginal mayor de 4,5 (debían cumplir al menos tres de los cuatro criterios) [29].

Los hisopos de fondo de saco vaginal y de cuello uterino fueron sembrados en los siguientes medios de cultivo: agar-sangre (Britania, Argentina), agar-chocolate (Britania), medio de Thayer Martin (Britania) (para *N. gonorrhoeae*), agar glucosado de Sabouraud (Glucosa 20 g, peptona 10 g, extracto de levadura 5 g, agar-agar 18 g, agua destilada csp 1 l), CHROMagar *Candida* (CHROMagar, Francia), caldo infusión cerebro-corazón suplementado con clorhidrato de cisteína, gentamicina y estreptomina para cultivo de *Trichomonas* (Britania). Los cultivos en agar-sangre, agar-chocolate y Thayer Martin fueron incubados a 37 °C durante 72 h, en una atmósfera enriquecida un 5% en CO₂; los restantes medios de cultivo se incubaron a igual temperatura, en aerobiosis y por un lapso de cinco días. La identificación de las bacterias aisladas se llevó a cabo por métodos convencionales ya publicados [14,22,29].

Identificación de las especies del género *Candida*. Todos los cultivos que presentaron desarrollo de hongos levaduriformes fueron examinados en la Unidad Micología para la identificación de género y especie y la realización de pruebas de sensibilidad in vitro frente a antifúngicos.

Mediante la observación de la placa de CHROMagar *Candida* se estableció si había una o más especies aisladas en la muestra. Seguidamente, se tomó una colonia aislada y se efectuó una resiembra en agar glucosado de Sabou-

raud sin antibióticos y a partir de este cultivo se realizaron las pruebas de identificación de las especies.

La identificación de *C. albicans* se efectuó en base a la observación de colonias verdes en CHROMagar *Candida* y la capacidad de producir tubos germinativos y clamidoconidias en agar leche con Tween 80 [13]. Se estudió también la capacidad de crecimiento a 45 °C, la asimilación de xilosa y la formación de clamidoconidias en el medio de Staib [26].

Cuando las colonias fueron de otros colores distintos del verde, se sembraron en agar harina de maíz para estudiar la micromorfología y se estudió la capacidad de asimilación de hidratos de carbono por medio del equipo API ID 32-C (bioMerieux, Francia) [5,12,18].

Pruebas de sensibilidad in vitro frente a fluconazol. El estudio de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se llevó a cabo por microdilución, siguiendo el procedimiento recomendado por el NCCLS (Documento M27-A), modificado [18,19]. El medio de cultivo utilizado fue RPMI (Gibco, EE.UU.), amortiguado con MOPS (0,165 mM) y con 2% de glucosa. Las lecturas fueron realizadas visualmente a las 24 y a las 48 h de incubación a 35 °C y se consideró como punto de corte a la concentración que presentaba una disminución marcada del desarrollo (> 50%) con respecto al control.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos fue realizado aplicando test asintótico para muestras grandes basado en la aproximación normal [9]. Se utilizó un programa computarizado de estadística Statistix, Argentina.

Resultados

Los resultados se presentan en la tabla 1. En el 93,8% de las muestras que presentaron aislamientos de levaduras, sólo pudo reconocerse una especie única, en tanto que en el 6,2% (ocho pacientes en total), fueron aisladas dos levaduras en la misma muestra. La asociación observada fue *C. albicans* y *C. glabrata*. La distribución de las distintas especies aisladas está expuesta, por orden de frecuencia, en la tabla 2. La incidencia de candidiasis vaginal fue mayor en el grupo de pacientes VIH positivas (21,6% vs 14%; p = 0,009). No hubo diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de las distintas especies de *Candida*, vaginosis bacteriana (24,2% vs 26,7%) ni tricomoniasis (3,6% vs 6,7%) en mujeres VIH positivas o negativas. En cinco muestras hubo infección asociada de *Candida* spp con *T. vaginalis* (tres casos) y *G. vaginalis* (dos casos).

Los resultados de las pruebas de sensibilidad in vitro frente a fluconazol se resumen en la tabla 2. No se comprobaron diferencias significativas de sensibilidad in vitro frente a fluconazol entre las cepas provenientes de mujeres

Tabla 1. Resultados de los estudios microbiológicos de las muestras de flujo vaginal en mujeres VIH+ y VIH - con vulvovaginitis aguda.

Causa	Nº de muestras (% del total)	VIH +	VIH -
Sin confirmación de causa			
infecciosa	385 (51,4)	169	216
Vaginosis bacteriana	192 (25,6)	81	111
Candidiasis	130 (17,4)	72	58
Tricomoniasis	40 (5,3)	12	28
Gonococia	2 (0,3)	0	2
Total	749 (100)	334	415

Tabla 2. Identificación y sensibilidad a fluconazol de las especies de *Candida* aisladas de vulvovaginitis aguda.

Microorganismo	Nº de aislamientos (%)	VIH+	VIH-	CMI ₅₀ (µg/ml)	CMI ₉₀ (µg/ml)	Rango (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	106 (76,8)	64	42	0,25	0,50	0,12 - >64
<i>Candida glabrata</i>	22 (15,9)	14	8	32	32	0,25 - >64
<i>Candida parapsilosis</i>	4 (2,9)	2	2			0,5-2
<i>Candida tropicalis</i>	2 (1,5)	1	1			0,5 - >64
<i>Candida krusei</i>	1 (0,7%)	1	0			64
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 (2,2%)	1	2			8-64
Total	138	83	55			

VIH positivas y seronegativas. La sensibilidad frente a fluconazol entre las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes VIH positivas, mostró que el 89% (57 cepas) tenían una CMI \leq 0,5 µg/ml, en tanto que las provenientes de mujeres VIH negativas fueron sensibles en el 90,5% de los casos (38 cepas) ($p=0,9266$). Con los aislamientos de *C. glabrata* se comprobó CMI \leq 32 µg/ml en 92,8% (13 cepas) de mujeres VIH positivas y en 87,5% (siete cepas) de las VIH negativas ($p=0,7261$).

Discusión y conclusiones

La mitad de las mujeres incluidas en este estudio presentaron una biota microbiana normal pese a tener síntomas de vulvovaginitis aguda. Este hallazgo ha sido observado en otros estudios y podría corresponder a causas no infecciosas de inflamación vaginal [1,21,25]. La vaginosis bacteriana fue la causa más frecuente de vulvovaginitis aguda entre las enfermas incluidas en este estudio. Este hecho ha sido señalado frecuentemente en la literatura [1,8,29].

La infección por VIH actúa como causa favorecedora de infecciones graves y recidivantes de las mucosas; sin embargo, su vinculación con el incremento de frecuencia de la candidiasis vaginal no es tan clara. La mayor parte de los estudios realizados adolecen de fallos metodológicos sobre todo asociados a la selección de la población testigo [4,6,23,30].

En este estudio hemos podido comprobar un mayor número de candidiasis vulvovaginal en las mujeres VIH positivas ($p=0,0086$). Sin embargo, no se comprobaron diferencias significativas en la sensibilidad a fluconazol de las cepas aisladas de ambos grupos de pacientes. En los estudios consultados, la frecuencia de vulvovaginitis por *Candida* varió entre el 15 y el 25%, por lo tanto la incidencia observada en nuestro estudio, tanto en las mujeres VIH positivas como en las VIH negativas se encuentra dentro de este rango [1,5,25]. Al igual que otros autores hemos comprobado que *C. albicans* (76,8%), fue la especie más frecuentemente aislada, seguida por *C. glabrata* (15,9%).

La frecuencia de aislamiento de esta última especie resulta superior a la referida en otras publicaciones, que fue del 6 al 8% [17,20,24]. Igualmente, se observaron un 6,2% de candidiasis mixtas por *C. albicans* y *C. glabrata*. Esto fue posible gracias al empleo de un medio cromógeno que resultó útil para demostrar infecciones mixtas, por lo que recomendamos añadir este medio en casos en que se observe la presencia de pseudohifas y blastoconidias en el examen microscópico directo. Por otra parte, como fue efectuada en forma simultánea la siembra de todas las muestras clínicas en medios de agar glucosado de Sabouraud y CHROMagar *Candida*, estamos en condiciones de afirmar que la sensibilidad de ambos medios de cultivo para aislar *Candida* spp no difiere.

En relación al estudio de sensibilidad in vitro, la mayor parte de las cepas de *C. albicans* fueron sensibles a fluconazol (CMI₉₀ = 0,5 µg/ml). Por el contrario, los aislamientos de *C. glabrata* fueron mucho menos sensibles a esta droga (CMI₅₀ y CMI₉₀ = 32 µg/ml). Estos hallazgos son similares a los encontrados por otros investigadores y justifican los frecuentes fracasos terapéuticos del fluconazol en las infecciones vaginales por *C. glabrata* [5,17,18,24].

Finalmente, pudimos observar una baja incidencia de infecciones por *T. vaginalis* en ambos grupos de enfermas, como parece ser la tendencia general observada en la República Argentina y otros países de América del Sur en los últimos años [1,3,8,15]. Comprobamos un menor número de casos de tricomoniasis y gonococia en mujeres VIH positivas. No tenemos una explicación certera para este hecho, pero tratándose de enfermedades de transmisión sexual, es posible que las pacientes VIH positivas adopten la conducta de sexo protegido.

Bibliografía

1. Bava J. Relación entre la presencia de *Candida* y flora microbiana de la vaginitis. Rev Arg Micol 1987; 10: 3-5.
2. Bava J. Influencia de los métodos anticonceptivos sobre la flora vaginal y su relación con la vaginitis candidiásica. Rev Arg Micol 1988; 11: 25-27.
3. Bava J. Incidencia de la vaginitis candidiásica en diferentes grupos etarios. Su relación con otras formas de vaginitis y con la fisiología vaginal. Rev Arg Micol 1989; 12: 12-15.
4. Burns DNR, Toumala BH, Chang R, Hershov H, Minkoff E, Rodriguez C, Zorrilla H, Hammill J, Regan J and for the women and infants transmission Study Group. Vaginal colonization or infection with *Candida albicans* in human immunodeficiency virus-infected women during pregnancy and during postpartum period. Clin Infect Dis 1997; 24: 201-210.
5. Costa M, Lisboa Fernandes O de F, Rodrigues Silva MR. Candidiase vulvovaginal: aspectos clínicos, tratamento oral e susceptibilidade «in vitro». Rev Patol Trop 2003; 32: 145-162.
6. Cu-Uvin S, Flanigan TP, Rich JD, Mileno MD, Mayer KH, Carpenter CC. Human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome among North American women. Am J Med 1996; 101: 316-322.
7. Deluchi JG, Petroni A. Métodos aplicados al diagnóstico y seguimiento de la infección por el HIV-1 en los adultos. En: Benetucci J y col. (Ed) Sida y enfermedades asociadas (2ª Ed.) Buenos Aires, Fundai. 2001: 53-96.
8. Diaz FG, Estrada S. Vaginitis y vaginosis bacteriana. En: Restrepo A, Robledo J, Leiderman E, Restrepo M, Botero D, Bedoya VI (Eds.) Enfermedades Infecciosas (6ª Ed.) Medellín, Corporación de Investigaciones Biológicas, 2003: 185-193.
9. Dixon WJ, Massey FJ. Introducción al análisis estadístico. Madrid, Mc Graw-Hill Inc., 1965.
10. Fidel PL Jr. Host defense against oropharyngeal and vaginal candidiasis. Site-specific differences. Rev Iberoam Micol 1999; 16: 8-15.
11. Foxman B. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: Risk factors. Amer J Publ Health 1990; 80: 329-331.
12. Guelfand L, Grisolia P, Bozzano C, Kaufman S. Comparación de métodos de identificación de las levaduras más frecuentes en el laboratorio de microbiología clínica. Rev Arg Microbiol 2003; 35: 49-53.
13. Jitsuron S, Kiamsini S, Pattararagron N. Milk medium for germ tube and chlamydoconidia production by *Candida*. Mycopathologia 1993; 123: 95-98.
14. Knapp JS, Koumans E. *Neisseria* and *Branhamella*. En: Murray P, Baron EJ, Pfaller M, Tenover FC, Tenover RN (Eds.). Manual of Clinical Microbiology (7th Ed.). Washington DC, ASM Press, 1999: 586-603.
15. Lacaz C da S, Porto E, Costa Martins JE, Heins-Vaccari EM, Takahashi de Melo N. Tratado de Micología Médica (9ª Ed). Ed. Sarvier, Sao Paulo, 2002: 262-268.
16. Lockhart SR, Reed BD, Pierson CL, Soll DR. Most frequent scenario for recurrent *Candida* vaginitis in strain maintenance with «substrain shuffling»: demonstration by sequential DNA fingerprinting with probes Ca3, C1 and CARE2. J Clin Microbiol 1996; 34: 767-777.
17. Magliani W, Conti S, Salati A, Arseni S, Frazzi R, Ravanetti L, Polonelli L. New strategies for treatment of *Candida* vaginitis infections. Rev Iberoam Micol 2002; 19: 144-148.
18. Muriel MA, Vizcaino MJ, Bilbao R, Herruzo R. Identificación de levaduras y sensibilidad «in vitro» a diversos antifúngicos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 18: 120-124.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M 27-A. Villanova, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
20. Okungbowa FI, Isikhuemhen OS, Debe APO. The distribution frequency of *Candida* species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities. Rev Iberoam Micol 2003; 20: 60-63.
21. Ruhnke M. Skin and mucous membrane infections. En: Calderone R (Ed.) *Candida* and candidiasis. Washington DC, ASM Press, 2002: 307-325.
22. Ryan KJ. Sherris Medical Microbiology and Introduction to Infectious Diseases (3rd Ed.) Nowark, Appleton & Lange, 1994.
23. Schuman P, Sobel JD, Ohmit SE, Mayer KH, Carpenter CC, Rompalo A, Duerr A, Smith DK, Warren D, Klein RS. Mucosal candidal colonization and candidiasis in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection HIV. Epidemiology Research Study (Hers) Group. Clin Infect Dis 1998; 27: 1161-1167.
24. Sobel JD. Vulvovaginitis due to *Candida glabrata*: an emerging problem. Mycoses 1998; 41 (Suppl. 2): S18-S22.
25. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, Reed BD, Summers PR. Vulvovaginal candidiasis epidemiologic, diagnostic and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178: 203-211.
26. Staib P, Morschhauser J. Chlamydospore formation on Staib agar as a species specific characteristic of *Candida dubliniensis*. Mycoses. 1999; 42: 521-524.
27. Steele C, Leigh J, Swobade R, Fidel PL Jr. Growth inhibition of *Candida* by human oral epithelial cells. J Infect Dis 2000; 182: 1479-1485.
28. Vazquez JA, Sobel JD. Mucosal Candidiasis. En: Walsh T, Rex J (Ed.). Fungal Infections. Part I. Recent Advance in Diagnosis, Treatment and Prevention of Opportunistic Mycoses. Infect Dis Clin N Amer 2002; 16: 793-820.
29. Wesley Catlin B. *Gardnerella vaginalis* characteristics, clinical considerations and controversies. Clin Microbiol Rev 1992; 5: 213-237.
30. White MH. Is vulvovaginal candidiasis an AIDS-related illness? Clin Infect Dis 1996; 22 (Suppl. 2): S124-S127.
31. Wormley FJ Jr, Steele C, Wozniak K, Fujihashi K, Mc Ghee J, Fidel PL Jr. Resistance of T-cell receptor delta-chain-deficient mice to experimental *Candida albicans* vaginitis. Infect Immun 2001; 69: 7162-7164.