
Prevalência e formação de tubos germinativos por isolados de *Candida albicans* oriundos de indivíduos sem DST com e sem candidíase peniana

Prevalence and formation of germ tubes by Candida albicans isolates derived from individuals without TSD and with and without penile candidiasis

Evandro Leão Ribeiro¹, Clever Gomes Cardoso², Moisés Morais Inácio³

^{1,3}Laboratório de Fungos Patogênicos do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil; ²Departamento de Histologia, Embriologia e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil.

Resumo

Objetivo – Isolar e identificar as leveduras de *Candida* oriundas da glândula do pênis de indivíduos sem doenças sexualmente transmissíveis (DST) e portadores ou não de candidíase peniana e detectar a formação de tubos germinativos por essas leveduras identificadas. **Métodos** – As leveduras de *Candida* foram isoladas, identificadas e tiveram a detecção de tubos germinativos realizada segundo Kreegen van-RIJ. **Resultados** – Constatou-se a presença de *C. albicans* em 56,7% (17/30) dos isolados oriundos de indivíduos com suspeita de infecção por leveduras e em 26,7% (08/30) de pacientes sem sintomatologia. Dos 17 isolados penianos de *C. albicans* oriundos de pacientes com sintomatologia, 9 (52,9%) formaram tubos germinativos (TG) dentro de 2 horas e dos 08 sem manifestação clínica, 05 (62,5%) formaram TG. O restante das amostras de *C. albicans* induziu a detecção de TG em 1 hora. Diferença estatisticamente significativa foi presenciada apenas em relação à avaliação da prevalência de *Candida* em indivíduos sem DST com e sem sintomatologia clínica de candidíase peniana. **Conclusões** – A superfície da glândula do pênis de homens sem DST e com suspeita de candidíase peniana mostrou-se mais carreadora de isolados de *C. albicans* em relação ao grupo de homens desprovidos de infecção fúngica e a detecção de tubos germinativos por isolados penianos de *C. albicans* não sofreu influência do quadro sintomatológico apresentado pelos grupos de homens avaliados neste estudo.

Descritores: *Candida albicans*; DST; Pênis

Abstract

Objective – To isolate and identify *Candida* yeasts arising of the glans penis from individuals without sexually transmitted diseases (STD) and patients with or without penile candidiasis and detect the formation of germ tubes by these identified yeasts. **Methods** –The *Candida* yeasts were isolated, identified and had the detection of germ tube made according Kreegen van RIJ. **Results** –The occurrence of *Candida* yeasts in 56.7% (17/30) of the isolates from patients with suspected *Candida* infection and in 26.7% (08/30) of patients without symptomatology. *C. albicans* was the only species of *Candida* identified in both groups. Of the 17 penile isolates of *C. albicans* from patients with symptoms, 9 (52.9%) formed germ tubes (GT) within 2h and of the 8 without clinical manifestation, 5 (62.5%) formed GT. The remaining *C. albicans* samples induced the detection of GT in 1h. Statistically significant difference was only attended to the assessment of the prevalence of *Candida* in patients without STD with or without clinical symptoms of penile candidiasis. **Conclusions** – The surface of the glans penis in men without STD with or without suspected penile candidiasis was more carrier of *C. albicans* isolates in relation to the group of men devoid of fungal infection and the detection of germ tubes by *C. albicans* isolates did not influence the symptomatologic status presented by groups of men in this study.

Descriptors: *Candida albicans*; STD; Penis

Introdução

Candida é um fungo leveduriforme integrante da microbiota da pele e demais mucosas do corpo humano desde o nascimento¹⁻⁶. Estas leveduras apresentam-se como micro-organismos oportunistas diante de algum comprometimento do sistema imunológico, mas podem atuar como agentes primários de processos patológicos⁵. Embora transmitida entre parceiros sexuais, à infecção por *Candida*, não é considerada uma doença sexualmente transmissível (DST)⁷.

Leveduras de *Candida* presentes na genitália masculina, numa função sapróbia, nutrem-se de restos celulares e tem a sua proliferação favorecida por ambientes quentes e úmidos, como ocorre na região do prepúcio^{5,8}. O microtraumatismo peniano que resulta de uma

atividade sexual pode ser suficiente para desencadear o processo de instalação de uma balanopostite por *Candida*^{1-6,9}. A presente situação clínica com certeza vai incomodar o portador⁹. Nas primeiras horas subsequentes, o paciente reclama de uma ardência ao contato com secreção vaginal ou à própria urina^{6,9-11}. A superfície de pele adquire uma coloração avermelhada, brilhante e friável (descama com facilidade ao toque)^{7,11-12}. A ocorrência de prurido intenso é uma sintomatologia típica de candidíase, inclusive na região peniana⁷. Em alguns homens com prepúcio longo ou portadores de diabetes, pode ser necessária a remoção cirúrgica do prepúcio (circuncisão), como um procedimento profilático à balanopostite por este fungo, visando assim à remoção da área de mucosa que se acha limitada na sua capaci-

dade de defesa local^{1,4,13}. Em pacientes suscetíveis, *Candida* é uma levedura integrante de nosso organismo, desde que não nos agrida^{3,5,12,15}. Dentro do aspecto micológico, não há a menor possibilidade de erradicá-la definitivamente uma vez que adquirimos novamente horas após, pela dieta, pelo ambiente, convívio social, sexual etc¹². O tratamento visa basicamente alívio para os sintomas e diminuir a população do fungo a uma quantidade que restabeleça o equilíbrio microbiológico tópico^{5,14}. Deve haver ainda a conscientização dos parceiros sexuais, que o tratamento de ambos é imperativo e medidas higiênicas adquiridas devem ser adotadas para seu controle efetivo^{1-6,9,12-13}.

Dentre os fatores de virulência de leveduras do gênero *Candida* (aderência, dimorfismo morfológico, variabilidade fenotípica – switching, exoenzimas: aspartil proteases e fosfolipases e toxinas: toxicoglicoproteínas e candidotoxinas), a capacidade de indução a formação de tubos germinativos além de verificar epidemiologicamente a diversificação das amostras leveduriformes, principalmente em relação a múltiplos cultivos de *Candida albicans*, serve também para caracterizar a capacidade de colonização e de infecciosidade por esse fungo^{14,16-17}. Capacidade fúngica favorecida pelo dimorfismo morfológico, onde a forma leveduriforme (infectante) sofre prolongamento celular induzindo à formação de pseudohifa a hifa verdadeira caracterizando a forma micelial (infectante)^{11,18-19}. Este trabalho teve por objetivo isolar e identificar as leveduras do gênero *Candida* oriundas da glândula do pênis de indivíduos sem doenças sexualmente transmissíveis (DST) e portadores ou não de candidíase peniana e detectar a capacidade de formação de tubos germinativos por essas amostras de leveduras identificadas.

Métodos

Amostras de *Candida*

Decorreram da repicagem de cultivos de *Candida* presentes nas micotecas dos laboratórios das unidades de saúde da cidade de Goiânia/GO – Brasil. Estes cultivos foram transportados, em tubos de ensaio contendo 4 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e acrescido de cloranfenicol, para o Laboratório de Fungos Patogênicos do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (LFP/IPTSP/UFG) no intuito de reisolamento e identificação das leveduras quanto ao gênero e espécie previamente detectadas morfológicamente pelo método de Gram^{20,17,19,21}. As amostras de *Candida*, empregadas neste estudo, foram decorrentes de superfície da glândula do pênis, coletadas com swabs esterilizados e umedecidos em soro fisiológico a 0,85% de 60 homens. Estes pacientes possuíam uma faixa etária de 21 a 50 anos de idade, com divisão igualitária quanto à propensão de candidíase peniana. Os indivíduos selecionados mantiveram atividade sexual até 96 horas antes do momento da coleta, sem uso de preservativo e clínico-laboratorialmente diagnosticados sem DST (Doenças Sexualmente Transmissíveis) e relatando ocorrência ou não de sintomatologia

de candidíase peniana. A caracterização da situação clínico-laboratorial dos pacientes, inclusive neste estudo, decorreu de acesso aos relatórios epidemiológicos das unidades de saúde, previamente autorizados pela direção administrativa das unidades, respeitado os procedimentos ético-profissionais, e confeccionados a partir de prontuários dos pacientes atendidos nos ambulatórios de DST das unidades de saúde da cidade de Goiânia/GO – Brasil.

O projeto que originou esse trabalho obteve aprovação do comitê de ética do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG) protocolo (CEPMHA/HC/UFG ° N 035/2002) e seguiu todas as normativas para pesquisa com humanos.

Reisolamento e identificação de leveduras

As colônias branco-amareladas que se desenvolveram, até 15 dias, em tubos de ensaio contendo 4mL de meio de ágar Sabouraud dextrose (ASD) inclinado com cloranfenicol, foram identificadas mediante a formação de clamidósporos em ágar corn-meal acrescido de tween 80 e teste de assimilação e fermentação de hidratos de carbono^{20,17,19,21}.

Detecção de tubos germinativos

Realizada mediante a obtenção de suspensão de 1 mL de células de *Candida* de cada amostra isolada em água destilada e autoclavada, contendo aproximadamente 102 a 103 unidades formadoras de colônias (UFC/mL), após cultivo por 24 a 48 horas em ASD e leitura em câmara de Neubauer. Cada amostra de *Candida* foi homogenizada a baixa rotação, inoculada em tubo de ensaio contendo 0,5 ml de soro fetal bovino e mantido por 4 horas em banho maria a 37°C. No transcorrer deste período de cada suspensão destas amostras, 1 gota foi examinada ao microscópio a cada intervalo de 1 hora. A evidenciação de tubo germinativo configurava teste positivo^{17,20}.

Estatística

Foi empregado o teste de qui-quadrado (X^2) para correlacionar os números de isolados de *Candida* oriundos dos grupos de indivíduos sem DST e com e sem sintomatologia de candidíase peniana e os números de amostras de *Candida*, em ambos os grupos anteriormente avaliados, que induziram a formação de tubos germinativos dentro de 1 a 2 horas. Os valores obtidos foram considerados estatisticamente quando $p < 0,05$.

Resultados

Das 60 amostras de *Candida* coletadas da superfície da glândula do pênis de indivíduos sem DST, 17/30 (56,7%) pacientes com suspeita de candidíase peniana induziram o crescimento de colônias leveduriformes e 08/30 (26,7%) dentro do grupo de homens sem sintomatologia clínica de infecção fúngica no pênis. *Candida albicans* foi a única espécie de *Candida* identificada em ambos os grupos avaliados (Tabela 1).

Tabela 1. Ocorrência de isolados de *Candida albicans* na glândula do pênis de indivíduos sem DST e com ou sem suspeita de candidíase peniana

Indivíduos sem DST (n = 60)	<i>Candida albicans</i>	
	Presentes (n = 30)	Ausentes (n = 30)
Grupo I	17 (56,7%)	13 (43,3%)
Grupo II	8 (26,7%)	22 (73,3%)

Grupo I. Indivíduos com suspeita de candidíase peniana. Relação estatística entre o grupo I e II; $\chi^2 = 5,5$; $p < 0,05$

Grupo II. Indivíduos sem suspeita de candidíase peniana

Os isolados de *C. Albicans* oriundos de homens sem DST e com sintomatologia de candidíase peniana induziram em 1h a formação de tubos germinativos em 8 (47,1%) amostras, enquanto no restante presenciou-se em 2h. Todavia no grupo II (indivíduos sem DST e sem manifestação de sintomas de candidíase peniana), em 5 (62,5%) cultivos de *C. Albicans*, constatou-se a ocorrência de tubos germinativos dentro de 2h e em 03 (37,5%) em 1h (Tabela 2).

Tabela 2. Formação de tubos germinativos por amostras de *Candida albicans* isoladas da glândula do pênis de indivíduos sem DST e com ou sem manifestação clínica de candidíase peniana

<i>C. albicans</i> Tubos germinativos	Grupo I (n = 17)	Grupo II (n = 08)
1h	8 (47,1%)	03 (37,5%)
2h	9 (52,9%)	05 (62,5%)

Grupo I. Indivíduos com suspeita de candidíase peniana. Relação estatística entre o grupo I e II; $\chi^2 = 1,1$; $p > 0,05$

Grupo II. Indivíduos sem suspeita de candidíase peniana

Discussão

O isolamento e a identificação de *C. albicans* em indivíduos sem DST e com (grupo I) ou sem (grupo II) suspeita clínica de candidíase peniana permitiu detectar diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os números de isolados de *Candida* provenientes de ambos os grupos I (56,7% – 17/30) e II (26,7% – 08/30) (Tabela 1). Aridogan *et al.*³ (2005) observaram na glândula do pênis de 245 homens turcos circuncidados a presença de leveduras em 55 (22,4%) indivíduos, com o predomínio de *C. albicans* em 67,3%, seguindo por leveduras de *Malassezia* (30,9%) e *Saccharomyces* (1,8%). Em 74 (16,0%) homens britânicos de 462 não circuncidados e independentes da orientação sexual, constatou-se em 26 (35,1%) a ocorrência de *Candida* peniana assintomática⁷. Lisboa *et al.*¹⁵ (2010) detectaram em 289 pacientes, sem sintomatologia de infecção leveduriforme no prepúcio e glândula do pênis, oriundos da cidade do Porto/Portugal, a presença de leveduras de *Candida* em 36 (12,5%) indivíduos. Balano-postite por *Candida* foi evidenciado numa prevalência 35,0% dos 450 homens atendidos durante três anos em clínicas genitourinárias do Reino Unido^{9-10,12,22}. Estes estudos puderam demonstrar que a oscilação de colonização de *Candida* no pênis pode variar de 10 a 40,0%. Variabilidade de prevalência

compatível a presenciada em nosso estudo. A maior predominância de isolados de *C. albicans* em pacientes sem DST e com e sem suspeita de candidíase peniana é constatada em decorrência da colonização assintomática do trato genital masculino ser quatro vezes mais frequente em parceiros de mulheres infectadas, e na maioria das vezes por cepas idênticas às isoladas no trato genital feminino^{6,11}. Na candidíase vaginal, *C. albicans* é a espécie mais identificada, seguida pelas não-albicans (*C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*)^{3,6,13}. A secreção prostática também parece funcionar como reservatório do fungo leveduriforme sugerindo a transmissão sexual¹¹. Em mais de 85,0% das ocorrências de candidíase peniana e nos casos recidivantes esta possibilidade deve ser considerada devido à presença de reservatórios genitais e extra-genitais^{6,11}. Leveduras de *Malassezia*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* e *Rhodotorula* podem ser ainda identificadas na microbiota do pênis, além *Candida*^{2,18}. A manifestação patogênica de isolados de *Candida* peniana surge geralmente 24 às 96h após a relação sexual^{6,11}. Esta situação foi compatível com a detecção da capacidade de colonização e infecciosidade de leveduras de *Candida* na região do pênis dos indivíduos avaliados neste estudo. Pacientes com quadro sintomatológico de infecção por micro-organismos comumente propiciam maior número de isolamento de amostras positivas⁶. Realidade microbiológica presenciada no grupo de homens com suspeita de candidíase peniana. Prurido e ardor no pênis foram os sintomas mais descritos por esses pacientes⁶. Em quadros de balanite infecciosa em homens com DST, *C. albicans* e demais espécies responderam pelo acometimento de 53,9% dos casos^{6,9-10,12,22}.

O dimorfismo morfológico apresentado por leveduras do gênero *Candida* no estabelecimento de processo de colonização e infecciosidade fúngica é favorecido pela capacidade de formação de tubos germinativos^{17,19,21}. Embora todas as amostras de *Candida albicans* tenham induzindo a produção de tubos germinativos, não se presenciou diferença estatística entre a capacidade de formação dessa estrutura fúngica por leveduras de *Candida* oriundas dos grupos de homens com suspeita clínica ou não de candidíase peniana ($p > 0,05$) avaliados neste trabalho (Tabela 2). Resultados que nos permitiu sugerir que os isolados de *Candida* detectados em cada paciente avaliado faziam parte da microbiota peniana independentemente da situação clínico-laboratorial apresentada. Aridogan *et al.*⁴ (2009), analisando a microbiota do prepúcio e glândula do pênis de crianças circuncidadas, comprovaram a presença de leveduras de *Candida* e *Malassezia* em condição sapróbia. De 55/245 (22,4%) leveduras isoladas do glândula de pênis de homens circuncidados de inúmeras localidades, 25/55 (45,4%) foram identificadas como *C. albicans*, mediante análise de características morfofisiológicas, incluindo a capacidade de formação de tubos germinativos por leveduras do gênero fúngico (Aridongan *et al.*³, 2005).

Conclusões

C. albicans continua sendo a espécie de *Candida* mais envolvida no processo de colonização e patogenicidade por esse fungo leveduriforme em homens sem DST e acometidos ou não de candidíase peniana. Clinicamente, os pacientes masculinos sem DST e infectados por leveduras de *Candida* no pênis queixavam-se de ardor e prurido. Estes pacientes apresentaram laboratorialmente o maior número de isolamento de amostras de *Candida* em relação a grupo de indivíduos masculinos sem DST e desprovidos de doença leveduriforme peniana.

A indução de formação de tubos germinativos por amostras de *C. albicans* oriundas dos grupos de homens sem DST e com e sem candidíase peniana não sofreu indução do quadro patológico provocado por *Candida*.

Referências

1. Alsterholm M. Studies on colonization and infection with *S. aureus* and other microbes in skin disease. [dissertations]. Gøteborg/Sweden; 2012.
2. Alsterholm M, Flytström I, Leifsdóttir R, Faergemann J, Bergbrant IM. Frequency of bacteria, *Candida* and *Malassezia* species in balanoposthitis. *Acta Derm Venereol*. 2008;88(4):331-6.
3. Aridogan IA, Ilkit M, Izol V, Ates A. *Malassezia* and *Candida* colonization on glans penis of circumcised men. *Mycoses*. 2005;48(5):352-6.
4. Aridogan IA, Ilkit M, Izol V, Ates A, Demirhindi H. Glans penis and prepuce colonisation of yeast fungi in a paediatric population: pre-and postcircumcision results. *Mycoses*. 2009;52(1):49-52.
5. David LM, Walzman M, Rajamanoharan S. Genital colonization and infection with *Candida* in heterosexual and homosexual males. *Genitourin Med*. 1997;73: 394-6.
6. Halbe HW. Tratado de ginecologia. São Paulo; Roca; 1993.
7. Moraes PSA. Balanite e balanopostite alérgica por *Candida albicans*. Sinopse de Urologia. São Paulo. 2003;7.
8. Gallenkemper G, Kuhlwein A, Kasper A. Fungal involvement of the penis in patients with penile condylomata acuminata. *Z Hautkr*. 1989;64(1):21-3.
9. Lisboa C, Ferreira A, Resende C, Rodrigues AG. Infectious balanoposthitis: management, clinical and laboratory features. *Int J Dermatol*. 2009;48(2):121-4.
10. Lisboa C, Santos A, Dias C, Azevedo F, Pina-Vaz C, Rodrigues A. *Candida* balanitis: risk factors. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2010;24(7):820-6.
11. Mayser P. Mycotic infections of the penis. *Andrologia*. 1999;31 (Suppl 1):13-6.
12. Vohra S, Badlani G. Balanitis and balanoposthitis *Urol Clin North Am*. 1992;19(1):143-7.
13. Aridogan IA, Izol V, Ilkit M. Superficial fungal infections of the male genitalia: a review. *Crit Rev Microbiol*. 2011;37(3):237-44.
14. Cárdenas CD, Carrillo AJ, Arias A, Rodríguez-Alvarez C, Torres-Lana A, Sierra A, Arévalo MP. Comparison of *Albicans* ID2 agar plate with the germ tube for presumptive identification of *Candida albicans*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002;42(3):181-5.
15. Iskit S, Ilkit M, Turç-Biçer A, Demirhindi H, Turker M. Effect of circumcision on genital colonization of *Malassezia* spp. in a pediatric population. *Med Mycol*. 2006;44(2):113-7.
16. Gauch LM, Silveira-Gomes F, Esteves RA, Pedrosa SS, Gurgel ES, Arruda AC, Marques-da-Silva SH. Effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil on germ tube formation by *Candida albicans* isolated from denture wearers. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(3):389-91.
17. Mattei AS, Alves SH, Severo CB, Guazzelli Lda S, Oliveira F de M, Severo LC. Use of mueller-hinton broth and agar in the germ tube test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56(6):483-5.
18. Payne K, Thaler L, Kukkonen T, Carrier S, Binik Y. Sensation and sexual arousal in circumcised and uncircumcised men. *J Sex Med*. 2007;4(3):667-74.
19. Vejsová M, Buchta V. Presumptive identification of *Candida albicans* by rapid diagnostic tests. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2006;12(5):180-3.
20. Lisboa C, Santos A, Azevedo F, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Direct impression on agar surface as a diagnostic sampling procedure for *Candida* balanitis. *Sex Transm Infect*. 2010;86:32-5.
21. Ribeiro EL, Carvalhaes MS, Campos CC, Cardoso CG, Toledo AO, Pimenta FC. Tubos germinativos na genotipagem de isolados bucais de *C. albicans* de crianças com Síndrome de Down e pais e/ou responsáveis. *ClipeOdonto-UNITAU*. 2010;2(1):34-8.
22. Dockerty WG, Sonnex C. Candidal balanoposthitis: a study of diagnostic methods. *Genitourin Med*. 1995;71(6):407-9.

Endereço para correspondência:

Dr. Evandro Leão Ribeiro
Laboratório de Fungos Patogênicos
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
Rua 85-A, nº 60 – Setor Sul – apto. 1501
Goiânia-GO, CEP 74080-020
Brasil

E-mail: evandro@terra.com.br

Recebido em 30 de novembro de 2014
Aceito em 29 de dezembro de 2014