

Principais microrganismos vaginais em gestantes de alto risco

Letícia Fernanda Queiroz Freitas; Larissa Rayanne da Silva Maia; Maria Rafaela Azevêdo Rodrigues de Deus; Sibebe Ribeiro de Oliveira; Adrya Lúcia Peres

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru, PE, Brasil

Resumo

Introdução: vaginites são comuns durante a gestação. Os principais microrganismos causadores de vaginites são *Candida* spp., *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis*. Estes patógenos vêm sendo associados a parto prematuro e baixo peso ao nascer. **Objetivo:** determinar a prevalência destes microrganismos entre gestantes de alto risco de uma maternidade na cidade de Caruaru, referência em pré-natal de alto risco no estado de Pernambuco. **Material e método:** trata-se de um estudo descritivo, no qual foram coletadas amostras de secreção vaginal com swab de gestantes de qualquer idade gestacional. As amostras foram destinadas à realização de esfregaço em lâmina corados pelo método de Gram, exame a fresco e cultura em ágar Sabouraud. Dados sociodemográficos e clínico-obstétricos foram obtidos das participantes através de questionário. **Resultados:** obtiveram-se amostras de 53 pacientes, onde 15 (28,30%) apresentaram cultura positiva para *Candida* spp. A maior prevalência de colonização por *Candida* se deu no terceiro trimestre de gestação. Outros microrganismos, como *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis* não foram encontrados neste estudo. **Discussão:** a candidíase é comum durante a gestação devido às alterações hormonais. Neste estudo foi observado uma maior prevalência de candidíase no terceiro trimestre gestacional, como visto em outros estudos. **Conclusões:** o microrganismo mais prevalente neste estudo foi a *Candida* spp., que mesmo sendo comum durante a gestação, merece atenção dos profissionais de saúde pelo possível risco que pode oferecer à gestante e ao feto.

Palavras-chave: Gravidez; Vaginite; Candida; Candidíase Vulvovaginal

Main vaginal microorganisms in high-risk pregnant women

Abstract

Introduction: vaginitis is common during pregnancy. The main microorganisms that can cause vaginitis are *Candida* spp., *Trichomonas vaginalis* and *Gardnerella vaginalis*. These pathogens have been associated with preterm delivery and low birth weight. **Objective:** to determine the prevalence of these microorganisms among high-risk pregnant women from a maternity hospital in the city of Caruaru, which is a reference in high-risk prenatal care in the state of Pernambuco. **Material and method:** this is a descriptive study, in which vaginal swabs were collected from pregnant women of any gestational age. With these samples, vaginal smears, wet mount examination and culture on Sabouraud agar were performed. Socio-demographic and clinical-obstetric data were obtained from participants by the use of a questionnaire. **Results:** samples were obtained from 53 patients, of which 15 (28,30%) had a positive culture for *Candida* spp. The highest prevalence of *Candida* colonization occurred in the third trimester of pregnancy. Other microorganisms such as *Trichomonas vaginalis* and *Gardnerella vaginalis* were not found in this study. **Discussion:** candidiasis is common during pregnancy due to hormonal changes. In this study, a higher prevalence of candidiasis was observed in the third trimester of pregnancy, as seen in other studies. **Conclusion:** the most prevalent microorganism in this study was *Candida* spp. Although it is common during pregnancy, this pathogen deserves attention of the health professionals due to the possible risk that it can offer to the pregnant woman and to the fetus.

Keywords: Pregnancy; Vaginitis; Candida; Candidiasis, Vulvovaginal

INTRODUÇÃO

Durante a gestação, os níveis de estrogênio e progesterona induzem alterações no trato genital inferior das mulheres, que podem favorecer a colonização ou infecção vaginal por microrganismos patogênicos. Devido a isto, a vaginite é bastante comum durante a gravidez, e está associada a resultados perinatais adversos, tais como ruptura prematura de membranas e parto prematuro⁽¹⁾. Entre as causas mais comuns de vaginites, destaca-se a Candidíase Vulvovaginal (CVV), causada por fungos do gênero *Candida*.

A CVV afeta mais de 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida, causando sintomas como prurido, irritação, dispareunia e corrimento vaginal esbranquiçado e grumoso. A espécie *Candida albicans* é responsável por cerca de 80-90% dos casos de CVV, porém, têm-se notado o aumento de casos de candidíase causado por espécies não-albicans⁽²⁾. A gestação é considerada um fator de risco para CVV, pois os altos níveis de estrogênio e progesterona facilitam a adesão e multiplicação de fungos do gênero *Candida* e predispõem as gestantes tanto à candidíase primária, quanto as recorrências⁽³⁾. Outros fatores de risco para esta infecção incluem diabetes, imunossupressão e uso de antibióticos⁽⁴⁾.

As infecções assintomáticas por *Candida*, em que se denomina colonização, também são bastante comuns durante a gravidez. Nos últimos anos, estudos têm evidenciado associação entre colonização por *Candida* na gestação e aumento do risco de parto prematuro e baixo peso ao nascer^(5,6). Também há evidências de que a infecção intra-uterina por *Candida albicans* está associada a complicações fetais, como disfunção cardíaca progressiva⁽⁷⁾.

Outras duas causas de vaginites que também têm sido associados a resultados perinatais adversos são a Tricomoniase e a Vaginose Bacteriana (VB). A Tricomoniase é causada pelo protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis*, que produz infecção assintomática em 10-50% dos casos. Existem evidências crescentes de associação entre infecção por este microrganismo durante a gestação e parto prematuro e baixo peso ao nascer^(8,9). A Vaginose Bacteriana é caracterizada redução da microbiota normal lactobacilar e pelo crescimento excessivo de bactérias anaeróbicas, com destaque para a *Gardnerella vaginalis*. Esta infecção tem sido associada ao parto prematuro, ruptura prematura de membranas e endometrite pós-parto⁽¹⁰⁾. Larsson *et al.* (2016) demonstrou que mesmo após o tratamento com clindamicina, as gestantes com diagnóstico prévio de VB sofriam um risco aumentado de parto prematuro espontâneo, em comparação com as gestantes com microbiota normal⁽¹¹⁾. São escassos os estudos brasileiros de prevalência destes microrganismos entre gestantes, sobretudo gestantes de alto risco.

OBJETIVOS

O propósito do presente estudo foi determinar a prevalência destes microrganismos entre gestantes de alto risco em acompanhamento pré-natal

em Hospital de referência em alto risco do estado de Pernambuco, no Município de Caruaru.

MATERIAL E MÉTODO

Tipo de estudo e população

Trata-se de um estudo descritivo, de corte transversal, com amostragem por conveniência, realizado no período entre maio e setembro de 2018. Foi utilizado como critério de inclusão, gestantes de alto risco em acompanhamento de pré-natal no Hospital na cidade de Caruaru, sem restrição de idade e período gestacional. Foram excluídas as gestantes que estavam em uso de antimicrobianos (orais ou endovaginais), que utilizaram cremes vaginais hormonais, que tiveram relação sexual nas últimas 24 horas antes da coleta, e que realizaram exame ginecológico ou ultrassonografia no mesmo dia, anteriormente à coleta.

Coleta de dados das pacientes

Previamente à coleta, as pacientes responderam a um questionário, onde foi possível avaliar as seguintes variáveis: idade, estado civil, escolaridade, renda, ocupação, raça, procedência (zona urbana ou rural), presença de patologias, ocorrência de aborto ou parto prematuro em gestações anteriores, presença de corrimento, prurido e dispareunia.

Coleta e análise das amostras de secreção vaginal

As amostras de secreção de cada paciente foram coletadas do terço distal da vagina com 3 swabs estéreis. A amostra do primeiro swab foi utilizada para confecção de esfregaço em lâmina de microscopia para posterior coloração pelo método de Gram. O segundo swab foi introduzido em tubo de ensaio contendo 1mL de solução fisiológica estéril a 0,9% para realização de exame a fresco e o último swab semeado em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose 4% (Merck, Darmstadt, Germany). Após as coletas, as amostras foram transportadas até o laboratório de microbiologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita) para serem analisadas.

As amostras das lâminas foram fixadas pelo calor em bico de Bunsen, coradas pelo método de Gram e visualizadas em microscópio para pesquisa de “clue cells”, característico da infecção por *Gardnerella vaginalis*. Para pesquisa de *Trichomonas vaginalis* e leveduras, uma gota da solução fisiológica contendo a secreção foi depositada sobre lâmina de vidro e visualizada em microscópio. As placas contendo ágar Sabouraud foram incubadas em estufa bacteriológica (Fanem, São Paulo, Brasil) a 37°C por 24 horas. Nas placas onde houve crescimento de microrganismo, foi observada a morfologia das colônias. Com as colônias sugestivas de *Candida* spp., lisas, de cor esbranquiçada/bege e textura cremosa foram confeccionados esfregaços corados pelo Gram para confirmação da presença de estruturas leveduriformes de formato ovalado e cor roxa, característico dos fungos do gênero *Candida*.

Foi considerado positivo as amostras que ocorreu crescimento em meio ágar Sabouraud independente da observação no exame direto e/ou Gram.

Análise de dados

Os dados obtidos com as respostas das gestantes ao questionário e com os resultados laboratoriais foram estruturados em planilha no software Excel (versão 1810), para análise de prevalência e do perfil das gestantes participantes do estudo.

Procedimentos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita). As gestantes foram devidamente informadas sobre os procedimentos e o objetivo da pesquisa, e as que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

Durante o período citado, foram obtidas um total de 53 amostras de secreção vaginal de gestantes. A idade destas pacientes variou de 14 a 43 anos, com média 28,51 anos. A faixa etária mais predominante foi de 25-35 anos (58,49%). Uma grande parcela das gestantes não completou o ensino fundamental (41,51%). Quase metade delas vivem em união estável (49,06%) e a grande maioria trabalha apenas em casa (71,70%). Quanto à renda, 53 (100%) recebem menos de 2 salários mínimos. A raça branca foi a mais predominante (49,06%), assim como as pacientes oriundas da zona urbana (62,26%). A Tabela 1 resume o perfil sociodemográfico das gestantes participantes da pesquisa.

Tabela 1. Perfil sociodemográfico das gestantes atendidas em maternidade do município de Caruaru (n=53).

	VARIÁVEL	N	%
Faixa etária	14 – 24 anos	15	28,30
	25 – 35 anos	31	58,49
	36 ou mais	7	13,21
Escolaridade	Ensino Fundamental completo	2	3,77
	Ensino Fundamental Incompleto	22	41,51
	Ensino médio completo	21	39,62
	Ensino médio incompleto	4	7,55
	Ensino superior completo	4	7,55
Estado civil	Casada	15	28,30
	Divorciada	1	1,89
	Solteira	11	20,75
	União Estável	26	49,06

Ocupação	Autônoma	1	1,89
	Do lar	38	71,70
	Funcionária pública	9	16,98
	Funcionária privada	5	9,43
Raça	Branca	26	49,06
	Negra	8	15,09
	Parda	19	35,85
Procedência	Zona rural	20	37,74
	Zona urbana	33	62,26
TOTAL		53	100

Das 53 amostras avaliadas, 15 (28,30%) apresentaram resultado compatível com *Candida* spp. na cultura em Sabouraud. Não foram encontrados outros microrganismos de interesse clínico nas amostras avaliadas, como *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis*, através do esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram e exame a fresco da secreção.

Grande parte das pacientes participantes do estudo se encontravam no terceiro trimestre de gestação, com um total de 27 gestantes (50,94%). Assim, a maior prevalência de colonização por *Candida* se deu nesse período gestacional, com um total de 8 casos (53,33%). As variáveis clínico-obstétricas encontram-se resumidas na Tabela 2.

Dentre as 15 pacientes com cultura positiva para *Candida*, 02 (13,33%) eram diabéticas, 01 (6,67%) relatou ter tido parto prematuro em gestações anteriores e 03 (20%) sofreram algum aborto espontâneo. Quanto à presença de sintomatologia sugestiva de Candidíase Vulvovaginal (corrimento vaginal, prurido e dispareunia), 10 (66,67%) pacientes se queixaram de pelo menos um desses sintomas, enquanto que 05 (33,33%) não relataram nenhum sintoma. A presença de corrimento vaginal foi relatado por 7 (46,67%) mulheres. Já o prurido genital e dispareunia foram relatados por 05 (33,33%).

Tabela 2. Variáveis clínico-obstétricas e número de culturas positivas

VARIÁVEL		N	%	CULTURAS POSITIVAS	%
Período gestacional	1º trimestre	4	7,55	3	20
	2º trimestre	22	41,51	4	26,67
	3º trimestre	27	50,94	8	53,33
Diabetes	Não	49	92,45	13	86,67
	Sim	4	7,55	2	13,33
Parto prematuro	Não	45	84,91	14	93,33
	Sim	8	15,09	1	6,67

Aborto espontâneo	Não	43	81,13	12	80
	Sim	10	18,87	3	20
Corrimento vaginal	Não	29	54,72	8	53,33
	Sim	24	45,28	7	46,67
Prurido	Não	44	83,02	10	66,67
	Sim	9	16,98	5	33,33
Dispareunia	Não	38	71,70	10	66,67
	Sim	15	28,30	5	33,33
TOTAL		53	100	15	100

DISCUSSÃO

No presente estudo, o microrganismo mais prevalente nas amostras de secreção vaginal das gestantes foi a *Candida*, com uma taxa de prevalência de 28,30%.

A gestação é considerada como um dos fatores de risco para a CVV. Gestantes apresentam um aumento de duas vezes na prevalência de *Candida* em comparação com mulheres não-grávidas. Isso se deve pelas alterações hormonais e pelo aumento do depósito de glicogênio e outros substratos na vagina durante esse período. Os estrogênios facilitam a adesão do fungo e também estimulam a produção de altos níveis de glicogênio pelo epitélio vaginal, que atua como fator nutritivo. Os níveis elevados de progesterona têm efeito supressor da imunidade celular e um efeito promotor de uma maior síntese do receptor epitelial que se liga à levedura^(12,13).

A epidemiologia da CVV varia muito entre os países e entre regiões de um mesmo país, dependendo do perfil demográfico e socioeconômico da população. O clima da região também interfere na prevalência deste microrganismo, visto que a candidíase é o tipo mais comum de vulvovaginites em países tropicais^(14,15). Os resultados encontrados neste estudo aproximam-se dos resultados obtidos por Heredia *et al.* (2006), que encontrou uma prevalência de 28% entre gestantes argentinas⁽¹⁶⁾. Um estudo brasileiro obteve porcentagem superior de 33,75%⁽¹⁷⁾. Taxas inferiores foram encontradas no Reino Unido (12,5%)⁽¹⁸⁾, na Malásia (17,20%)⁽¹⁹⁾, na Nigéria (25%)⁽²⁰⁾ e na Índia (4,13%)⁽¹⁾.

A *Candida* é um patógeno oportunista, residindo no hospedeiro humano numa relação de comensalismo. Esse microrganismo tende a se manifestar quando há uma alteração na microbiota normal ou em casos de imunossupressão⁽²⁾. Assim, ocorre a germinação das leveduras da *Candida* com a formação de hifas, que invadem o epitélio vaginal, causando sintomas como corrimento vaginal, prurido e dispareunia⁽¹²⁾. Em muitos casos a infecção é assintomática, e assim é denominado colonização⁽²¹⁾. No presente estudo, 66,67% das mulheres com cultura positiva para *Candida* apresentaram pelo

menos um dos sintomas citados, enquanto que 33,33% apresentaram colonização assintomática.

Além da gestação, outro fator de risco importante para a candidíase são as situações de hiperglicemia e diabetes, em que o excesso de glicogênio facilita a instalação do microrganismo⁽¹²⁾. Neste estudo, 04 pacientes eram diabéticas, e destas, 02 apresentaram cultura positiva para *Candida spp.*

Alguns autores afirmam que a incidência de candidíase aumenta com a idade gestacional, como relatado por Olowe *et al.* (2014)⁽⁴⁾ e Sangaré *et al.* (2017)⁽²¹⁾. Neste estudo, ocorreu um aumento da frequência com o aumento da idade gestacional, onde a maior prevalência de colonização por *Candida* se deu no terceiro trimestre de gestação. Porém também existem divergências na literatura. No estudo realizado por Masri *et al.* (2015), gestantes do primeiro e segundo trimestre de gestação tinham um maior risco de adquirir candidíase comparado com as gestantes do terceiro trimestre⁽¹⁹⁾. Já Parveen *et al.* (2008)⁽²²⁾ e Brandão (2017)⁽²⁾ não encontraram associação entre período gestacional e CVV em gestantes.

A relação entre a colonização por *Candida spp.* durante a gestação e a ocorrência de eventos obstétricos adversos permaneceu controversa por muito tempo. Nos últimos anos, evidências de associação entre este microrganismo e o parto prematuro e baixo peso ao nascer vem aumentando. Dados preliminares de um grande ensaio clínico demonstraram tendência a uma redução do parto prematuro espontâneo entre mulheres com candidíase assintomática que foram tratadas com clotrimazol⁽²³⁾. Farr *et al.* observaram associação entre a colonização assintomática recorrente por *Candida albicans* no início da gestação e aumento do risco de parto prematuro e baixo peso ao nascer⁽⁵⁾. Posteriormente, estes mesmos pesquisadores observaram que a colonização por *Candida spp.* durante o segundo trimestre de gestação também aumenta o risco de nascimento prematuro e baixo peso ao nascer, ainda mais do que a colonização durante o primeiro trimestre, ressaltando a importância do rastreio deste microrganismo durante este período gestacional⁽⁶⁾. Em um estudo recente realizado com modelo animal, no qual ovelhas gestantes receberam injeção intra-amniótica de *C. albicans*, foi demonstrado que a infecção intra-uterina por esse microrganismo no início da gestação causa candidíase fetal sistêmica e disfunção cardíaca progressiva⁽⁷⁾.

CONCLUSÕES

A *Candida spp.* foi o principal microrganismo isolado em amostras de secreção vaginal das gestantes de alto risco, onde a maior frequência se deu no terceiro trimestre gestacional. Mesmo sendo comum durante a gestação, é importante detectar o agente e tratar as gestantes, que podem estar assintomáticas, considerando que vários estudos apontam relação com partos prematuros e baixo peso neonatal, principalmente com o aumento do trimestre gestacional. Esse microrganismo merece atenção dos profissionais de saúde pelo possível risco que pode oferecer à gestante e ao feto.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaríamos de agradecer à Deus por ser essencial em nossas vidas e por abrir portas para que o trabalho fosse realizado. Também somos gratas aos nossos familiares por todo apoio e por não medirem esforços para que chegássemos até aqui. Aos queridos médicos obstetras Jesana Alves e Antônio Cansação, à enfermeira Priscila e à biomédica Edjane por todo acolhimento no Hospital Jesus Nazareno. Agradecemos em especial à enfermeira Beatriz Azevedo por todo auxílio, dedicação e tempo conosco durante as coletas. Ao Centro Universitário Tabosa de Almeida, por disponibilizarem os laboratórios para processamento das amostras. Às professoras Adrya Peres e Sibebe Ribeiro que se dedicaram a ensinar e compartilhar seus conhecimentos conosco nos auxiliando a concluir esse trabalho de conclusão de curso. À todos, deixamos nossos eternos agradecimentos e carinho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rathod S, Vijayalakshmi S. Prevalence of vaginitis during pregnancy and its fetal maternal outcome in the rural setup. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*. 2016 Jun; 5(6): 1823-1826. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20161670>
2. Brandão LDS. Prevalência e susceptibilidade antifúngica de *Candida spp.* implicada na candidíase vulvovaginal em gestantes. Natal. Dissertação [Mestrado em Biologia Parasitária] – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2017.
3. Aguin TJ, Sobel JD. Vulvovaginal Candidiasis in Pregnancy. *Curr Infect Dis Rep*. 2015 Jun; 17(6):462. PMID:25916994.
4. Olowe OA, Makanjuola OB, Olowe R, Adekanle DA. Prevalence of Vulvovaginal Candidiasis, Trichomoniasis and Bacterial Vaginosis among pregnant women receiving antenatal care in Southwestern Nigeria. *Eur J Microbiol Immunol*. 2014 Dec; 4(4): 193-7. PMID:25544891.
5. Farr A, Kiss H, Holzer I, Husslein P, Hagmann M, Petricevic L. Effect of asymptomatic vaginal colonization with *Candida albicans* on pregnancy outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015 Sep; 94(9): 989-96. PMID:26084843.
6. Holzer I, Farr A, Kiss H, Hagmann M, Petricevic L. The colonization with *Candida* species is more harmful in the second trimester of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2017 Apr; 295(4): 891-895. PMID:28255766.
7. Stock SJ, Patey O, Thilaganathan B, et al. Intrauterine *Candida albicans* Infection Causes Systemic Fetal Candidiasis With Progressive Cardiac Dysfunction in a Sheep Model of Early Pregnancy. *Reprod Sciences*. 2017; 24(1): 77-84. PubMed PMID:27217375.

8. Sherrard J, Ison C, Moody J, Wainwright E, Wilson J, Sullivan A. United Kingdom National Guidelines on the Management of *Trichomonas vaginalis*. Int J STD AIDS. 2014 Jul; 25(8): 541-9. PMID:24616117.
9. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, Jamil MS, Rumbold AR. *Trichomonas vaginalis* as a Cause of Perinatal Morbidity: a Systematic Review and Meta-Analysis. Sex Transm Dis. 2014 Jun; 41(6):369-76. PMID:24825333.
10. Rao JVN, Chandini J. The Association of Bacterial Vaginosis with Adverse Pregnancy Outcome. J Evid Based Med Healthc. 2017 Jun; 4(50):3040-3042. DOI:<https://doi.org/10.18410/jebmh/2017/602>.
11. Larsson PG, Poutakidis G, Adolfsson A, Charonis G, Bauer P, Ekström L. Treatment of Bacterial Vaginosis in Early Pregnancy and its Effect on Spontaneous Preterm Delivery and Preterm Premature Rupture of Membranes. Clin Microbiol. 2016 Sep; 5(5). DOI: 10.4172/2327-5073.1000259.
12. Ziarrusta GB. Vulvovaginitis candidiásica. Rev Iberoam Micol. 2002; 19:22-4.
13. Hay P, Czeizel AE. Asymptomatic trichomonas and candida colonization and pregnancy outcome. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2007; 21(3): 403-409. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2007.02.002.
14. Gandhi TN, Patel MG, Jain MR. Prospective study of vaginal discharge and prevalence of Vulvovaginal Candidiasis in a tertiary care hospital. Int J Cur Res Rev. 2015; 7(1): 34-38.
15. Nunes RD, França CO, Traebert JL. Prevalência de vulvovaginites na gestação e sua associação com complicações perinatais. Arq Catarin Med. 2018; 47(1): 121-132.
16. Heredia MG, Garcia SD, Coppolillo EF, et al. Prevalencia de candidiasis vaginal embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. Revista Argentina de Microbiología. 2006; 38: 9-12.
17. Bonfanti G, Gonçalves TL. Prevalência de *Gardnerella vaginalis*, *Candida spp.* e *Trichomonas vaginalis* em exames citopatológicos de gestantes atendidas no Hospital Universitário de Santa Maria-RS. Revista Saúde (Santa Maria). 2010; 36(1): 37-46.
18. Akinbiyi AA, Watson R, Feyi-Waboso P. Prevalence of *Candida albicans* and bacterial vaginosis in asymptomatic pregnant women in South Yorkshire, United Kingdom. Outcome of a prospective study. Arch Gynecol Obstet. 2008; 278(5): 463-6. PMID:18299865.
19. Masri SN, Noor SM, Nor LAM, Osman M, Rahman MM. *Candida* isolates from pregnant women and their antifungal susceptibility in a Malaysian tertiary-care hospital. Pak J Med Sci. 2015; 31(3): 658-661. PMID: 26150863.
20. Nurat AA, Ola BG, Olushola SM, Mikhail TA, Ayodeji AS. Detection and Epidemiology of Vulvovaginal Candidiasis among Asymptomatic Pregnant

Women Attending a Tertiary Hospital in Ogbomoso, Nigeria. *IJBR*. 2015; 6(7): 518-523.

21. Sangaré I, Sirima C, Bamba S, et al. Prevalence of vulvovaginal candidiasis in pregnancy at three health centers in Burkina Faso. *J Mycol Med*. 2017; 28(1): 186-192. PMID:28939305.

22. Parveen N, Munir AA, Din I, Majeed R. Frequency of vaginal candidiasis in pregnant women attending routine antenatal Clinic. *J Colleg Phys Surg Pak*. 2008;18(3):154–157. doi: 03.2008/JCPSP.154157.

23. Roberts CL, Rickard K, Kotsiou G, Morris JM. Treatment of asymptomatic vaginal candidiasis in pregnancy to prevent preterm birth: an open-label pilot randomized controlled trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2011;11:18. PMID:21396090.