

**CANDIDÍASE EXPERIMENTAL VAGINAL (CEV): HEMOGRAMA, PERFIL HEPÁTICO E DOSAGEM DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTAIS (PPT)**  
**WENDISCH, I.<sup>\*11</sup>; ANTUNES, T.A.<sup>2</sup>; MEINERZ, A.R.M.<sup>3</sup>; FARIA, R.O.<sup>3</sup>; NASCENTE, P.S.<sup>4</sup>;  
FONSECA, A.O.<sup>1</sup>; RODRIGUES, M.R.<sup>5</sup>; MELLO, J.R.B.<sup>3</sup>; MEIRELES, M.C.A.<sup>4</sup>; CLEFF,  
M.B.<sup>4</sup>**

## RESUMO

Em medicina veterinária os relatos de candidíase são escassos estando mais comumente relacionados ao tegumento cutâneo e/ou mucosas. Nestes casos, geralmente não são avaliados os parâmetros hematológicos dos animais doentes. O presente estudo objetivou avaliar o hemograma, Proteínas Plasmáticas Totais (PPT) e dosagens de Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA) de Ratas albinas Wistar com Candidíase Experimental Vaginal (CEV). Foram utilizadas no experimento 10 ratas albinas linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) mantidas no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) com dieta e água "ad libitum". Para o desenvolvimento da infecção as ratas foram imunossuprimidas através da administração de 5mg/kg de Acetato de Cortisona antes da inoculação e semanalmente. Os animais foram inoculados intravaginalmente com 0,2 mL de suspensão do inóculo, contendo  $2 \times 10^7$  células de *C. albicans* durante três dias consecutivos. Após 30 dias realizou-se necropsia e o sangue foi coletado através de punção cardíaca e enviado ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas Veterinária (UFPel). Em relação ao eritrograma 20% (2/10) dos animais apresentaram hematócrito, hemoglobina e número de hemácias abaixo do limite fisiológico caracterizando um quadro de anemia. A leucopenia já era esperada devido a uma imunossupressão causada pela utilização de corticosteróide. Os resultados demonstram a importância do monitoramento de pacientes infectados por *Candida* spp., já que na Candidíase experimental vaginal ocorreram quadros de anemia e desidratação.

## INTRODUÇÃO

Leveduras do gênero *Candida* são cosmopolitas e fazem parte da microbiota do homem e animais, colonizando mucosas do trato gastrointestinal, vaginal, anal e pele, sendo *Candida albicans* a espécie mais patogênica, apesar de outras espécies serem consideradas importantes patógenos (Lacaz et al., 2002; Cleff et al., 2007).

A candidíase vulvovaginal ocorre quando há proliferação de leveduras do gênero *Candida* na mucosa vaginal, levando a formas clínicas leves até graves e recidivantes (Ziarrusta, 2002). Vários estudos demonstraram que a infecção vaginal por *C.albicans* sofre influencias dos níveis de hormônios ovarianos, sendo favorecida por altas taxas de estrógeno e progesterona (Ziarrusta, 2002), estudos demonstraram que os altos níveis de estrógeno favorecem o acúmulo de glicogênio nas células epiteliais da vagina, aumentando a fonte de carboidratos para o crescimento e germinação de *Candida* (Sobel 1998; Ziarrusta, 2002).

Segundo alguns autores, o avanço o mais importante neste campo na última década foi o reconhecimento dos vários aspectos envolvidos com a candidíase e o entendimento de

---

<sup>1</sup>\*Bolsista de Iniciação Científica – CNPq; Laboratório de Doenças Infecciosas - Setor Micologia, UFPel, iarawendisch@hotmail.com;

<sup>2</sup> Programa de Pós -graduação em Ciências Veterinária, UFRGS;

<sup>3</sup> Departamento de Veterinária Preventiva, UFPel;

<sup>4</sup> Departamento de Patologia Animal, Faculdade Veterinária, UFPel;

<sup>5</sup> Departamento de Química Orgânica, UFPel.

que seu tratamento exige a individualização (Val & Almeida F<sup>o</sup>, 2001; Ziarrusta, 2002). Assim, uma avaliação clínica completa e os exames complementares, são essenciais para compreender e direcionar ou otimizar a terapêutica desta infecção micótica, que representa um problema de saúde pública, por infectar milhões de pessoas em todo o mundo. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o hemograma, Proteínas Plasmáticas Totais (PPT) e dosagens de Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA) de Ratas albinas Wistar com Candidíase Experimental Vaginal (CEV).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para o experimento, foram utilizadas 10 fêmeas albinas linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), ovariectomizadas, mantidas no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) com dieta de acordo com peso corporal e água “ad libitum”. Todos os animais foram adaptados ao manuseio pelo período de duas semanas, sendo que os procedimentos respeitaram os princípios da ética em Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A técnica de reprodução experimental da candidíase vaginal foi realizada conforme Chami & Chami (2004). Para o desenvolvimento da Candidíase experimental os animais foram ovariectomizados, tratados antes da inoculação e semanalmente com valerato de estradiol, via subcutânea e foram imunossuprimidos com 2 mg/L de dexametasona (Fortecortin, Laboratório Merk) adicionado na água de beber.

O inóculo fúngico foi preparado utilizando colônias de *C. albicans* cultivadas a 35°C por um período de 24-48hs. As colônias foram retiradas do meio de cultura com auxílio de uma alça de platina, adicionadas a solução salina tamponada (PBS) homogeneizadas e padronizadas em 10<sup>6</sup> células de *C. albicans*/mL.

Antes da inoculação e antes de começar o tratamento, foram coletadas amostras da cavidade vaginal dos animais para confirmação da ausência e/ou presença de leveduras do gênero *Candida*.

Após o período de adaptação, todos os animais foram inoculados intravaginalmente, utilizando seringa graduada de 1 mL com 0,2 mL de suspensão do inóculo.

No decorrer do experimento, foi realizado o acompanhamento clínico dos animais experimentais, sendo analisados quanto ao estado geral, de acordo com os seguintes parâmetros: Apatia, desidratação, lesão cutânea, perda pêlos, pontos na mucosa, eritema e pêlos arrepiados, além de ocorrência de mortes e realização de pesagens semanais de todas as ratas.

No final do período experimental foi coletado sangue através de punção-cardíaca, para a realização do hemograma completo e dosagem de enzimas Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA). Os exames laboratoriais foram realizados no setor de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária - UFPel.

Após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados através de anestesia profunda para avaliação macro e micromorfológica dos órgãos, sendo coletado o trato reprodutivo e órgãos internos como rins, baço e fígado. Os órgãos colhidos para o exame histopatológico foram acondicionados em formol a 10%, sendo, posteriormente, incluídos em parafina e processados, utilizando-se coloração de HE (Hematoxilina-Eosina) e PAS (Ácido Periódico-Schiff), para posterior análise.

## RESULTADOS

Após o período experimental as amostras foram coletadas e imediatamente processadas, e os resultados de hemograma foram os seguintes: No leucograma, 50% (5/10) das ratas demonstraram leucopenia por linfopenia, sendo que quatro animais tinham contagem de leucócitos totais entre 3000 e 4100/ mm<sup>3</sup> e uma apresentou 1900 leucócitos totais. As PPT estavam aumentadas em 40% (4/10) das ratas e ocorreu devido a uma desidratação. Em relação ao eritrograma 20% (2/10) dos animais apresentaram hematócrito, hemoglobina e número de hemácias abaixo do limite fisiológico caracterizando um quadro de anemia (Tabela 1).

O exame hematológico constitui um método direto e prático de se estudar os elementos figurados do sangue periférico, sendo observadas alterações nestes elementos em praticamente, todas as enfermidades. Efetivamente, estas alterações são inespecíficas, comuns a um grande número de patologias, porém os achados hematológicos fornecem informações sobre os diversos sistemas orgânicos. A maioria dos distúrbios hematológicos pode ser identificada por anormalidades específicas desses resultados, sendo que na identificação de estados patológicos o sangue muitas vezes pode fornecer informações diagnósticas valiosas, prognóstico, resposta ao tratamento e recuperação (Sanderson & Philips, 1981; Duncan & Prasse, 1982; Feldman et al., 2000).

A diminuição de glóbulos brancos ou leucopenia, observada no estudo já era esperada devido a imunossupressão provocada nos animais experimentais para o desenvolvimento e manutenção da infecção (Chami & Chami, 2004). Os glóbulos brancos são responsáveis pelo combate às infecções, sendo que a contagem normal destas células em ratos wistar ficam entre 6.0 e 10.5 x 10<sup>6</sup> uL aproximadamente. Uma redução na contagem de glóbulos brancos pode indicar uma maior susceptibilidade às infecções, e pode ocorrer por diferentes fatores, entre eles o uso de corticosteróides. Embora pouco significativa, a diminuição dos leucócitos na circulação pode estar relacionada com a migração destas células para o local da lesão tecidual (FELDMAN, et al., 2000).

Tabela 1: Valores médios +/- desvio padrão referentes ao hemograma dos animais experimentais com candidíase experimental vaginal, aferidos após o período de 30 dias.

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Eosinófilos (mm <sup>3</sup> )	0	0
Monócitos (mm <sup>3</sup> )	0	0
Linfócitos (mm <sup>3</sup> )	3228	207,6
Bastonetes (mm <sup>3</sup> )	0	0
Segmentados (mm <sup>3</sup> )	1872	212
Leucócitos Totais (mm <sup>3</sup> )	5100	110
ERITRÓCITOS (x 10 <sup>6</sup> /L)	7,23	5
HEMOGLOBINA (g/dL)	9,75	3,45
HEMATÓCRITO (%)	36	3
PPT (%)	0	3,25

Os resultados de análise das enzimas hepáticas, Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA), encontraram-se dentro dos limites fisiológicos esperados para a espécie (Tabela 2). A permanência dos índices da FA e ALT, dentro da normalidade, provavelmente ocorreram devido a infecção ficar localizada na mucosa vaginal e não se disseminar para o parênquima hepático, uma vez que não foram detectadas, alterações macro e micromorfológicas no fígado.

Tabela 2: Valores da Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA) de ratos norvegicus wistar com candidíase vaginal experimental

<b>Animais experimentais</b>	<b>ALT (UI/L)</b>	<b>FA (UI/L)</b>
<b>1</b>	36,0	67,3
<b>2</b>	37,0	128
<b>3</b>	29,0	100,1
<b>4</b>	32,0	107,1
<b>5</b>	35,0	114,8
<b>6</b>	30,0	123,5
<b>7</b>	40,0	95
<b>8</b>	53,0	125,1
<b>9</b>	41,0	118,6
<b>10</b>	37,0	105,6

ALT: Alanina Aminotransferase; FA: Fosfatase alcalina .

As determinações das atividades séricas das enzimas FA e da ALT têm sido utilizadas para avaliar a integridade do sistema hepatobiliar. A ausência de alterações, nas atividades séricas demonstra integridade do fígado, apesar destas não serem um indicador específico de lesão hepática (KANEKO et al., 1997). Estudos realizados com infecção experimental com o fungo *S. schenckii* demonstraram alterações hematológicas, anatomopatológicas e na FA, sendo descrito como fatores que agravam ou interferem para o reestabelecimento e tratamento da micose (Meinerz et AL., 2007).

## **CONCLUSÃO**

Os resultados demonstram a importância do monitoramento de pacientes infectados por *Candida* spp., já que em nosso estudo com Candidíase experimental vaginal ocorreram quadros de anemia e desidratação.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chami, N.; Chami, F.; Bennis, S.; Trouillas, J.; Remmal, A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *The Braz. J. Infec. Dis.*, 8(3): 217-226, 2004.
- Magliani, W.; Conti, S.; Salati, A.; Arseni, S.; Frazzi, R.; Ravanetti, L.; L. Polonelli. New strategies for treatment of *Candida* vaginal infections. *Rev Iberoam Micol* 2002; v.19; p.144-148
- Sanderson, J.H. & C.E. Philips (1981) "*An Atlas of Laboratory Animal Haematology*". Clarendo Press, Oxford.
- Duncan, J.R. & K.W. Prasse (1982) "*Patologia Clínica Veterinária*", Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Farias, M.R.; Giuffrida, R. Antifúngicos. In: ANDRADE, S.F. *Manual de Terapêutica Veterinária*. Rocca: São Paulo, p.59-70, 2002.
- Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. Schalm.s *Veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.
- Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5. ed. San Diego: Academic, 1997. 932p.
- Guimarães, R.X. (1990) "Clínica e Laboratório: Interpretação Clínica das provas laboratoriais" Sarvier. São Paulo.
- Meinerz, A.R.M.; T.A. Antunes, **M.B. Cleff**, M.C.A. Meireles, J.R.B. Mello. Systemic experimental sporotrichosis in wistar rats: Hematological evaluation and hepatic function. **Arq Bras Med Vet Zoot (ABMVZ)**, v.60, n.4, p.1026-1028, 2008.
- Sanderson, J.H. & C.E. Philips (1981) "*An Atlas of Laboratory Animal Haematology*". Clarendo Press, Oxford.
- Sobel JD. Pathogenesis and epidemiology of vulvovaginal candidiasis. *Ann NY Acad Sci* 1988; 544: 547-557.
- Val, I.C.C.; Almeida F<sup>o</sup>, G.L. Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal. DST- **J Bras Doenças Sex Transm** ., 2001, 13 (4): p.3-5.
- Ziarrusta, G. B. Vulvovaginitis candidásica. *Rev Iberoam Micol*, v.19, p. 22-24, 2002.