

HEMOCULTURA E UROCULTURA NO DIAGNÓSTICO DE CANDIDEMIA

SANTIN, R.^{1*}; MATTEI, A. S.¹; ALBANO, A. P. N.¹; FONSECA, A.O.S.²;
XAVIER, M. O.³; FARIA, R. O.⁴; NASCENTE, P. S.⁵; MELLO, J.R.B.⁴;
MEIRELES, M.C.⁶; CLEFF, M.B.⁶

Introdução

As infecções sistêmicas por leveduras do gênero *Candida* são relatadas rotineiramente em hospitais humanos, sendo caracterizadas por alta morbidade e mortalidade, especialmente em pacientes imunocomprometidos. Em veterinária, as infecções sistêmicas são relatadas de forma isolada, especialmente em pequenos animais. No entanto, a possibilidade de disseminação de *Candida* spp. para diversos tecidos é uma realidade cada vez mais próxima da medicina veterinária, sendo assim, os profissionais devem estar preparados para o diagnóstico e administração da terapia adequada (MULLER et. al, 2002; MORETTI et. al, 2004; MORETTI et. al, 2006; COLOMBO & GUIMARÃES, 2003). Entretanto, nas fungemias os dados clínicos ou laboratoriais disponíveis não são seguros para permitir que profissionais da área identifiquem quais episódios serão característicos de candidíase transitória e quais acarretarão quadros de candidíase disseminada (COLOMBO & GUIMARÃES, 2003).

Segundo o Comitê da EORTC (European Organization for the Research and Treatment of Cancer) e NIAD (National Institute of Allergies and Infectious Diseases), a infecção fúngica invasiva pode ser definida por vários fatores, dentre os fatores clínicos estão a presença de *Candida* sp. em urina na ausência de cateter urinário e resultados positivos para a levedura em hemoculturas.

A candidemia pode ocorrer através da via endógena, no qual há a translocação de *Candida* sp. do trato gastrointestinal até os capilares mesentéricos. Sendo assim, fatores que aumentem a colonização intestinal por *Candida* (uso de antibióticos ou oclusão intestinal) ou determinem atrofia ou lesão de mucosa intestinal (jejum prolongado, nutrição parenteral total, hipotensão, quimioterapia) pode potencializar este fenômeno. A via exógena ocorre através do contato das mãos de profissionais de saúde, com pacientes portadores de cateteres vasculares em posição central, implante de próteses contaminadas, bem como pela administração parenteral de soluções contaminadas (COLOMBO & GUIMARÃES, 2003).

Em medicina humana, a urucultura é um evento muito freqüente entre pacientes expostos a fatores de risco, sendo que até 20% de pacientes hospitalizados podem apresentar candidúria ao longo de sua internação, particularmente pacientes de unidade de terapia intensiva. Este achado laboratorial traz dilemas em relação a sua interpretação, visto que pode

¹ Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel seminhavet@yahoo.com.br

² Estagiária do Laboratório de Doenças Infecciosas - Setor Micologia – UFPel

³ Programa de Pós-Graduação em Pneumologia - UFRGS

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - UFRGS

⁵ Dr^a Médica Veterinária - Autônoma

⁶ Departamento de Veterinária Preventiva – UFPel

corresponder à simples contaminação da coleta de urina até candidúria assintomática, cistite ou pielonefrite, candidíase renal primária, bola fúngica ureteropélvica ou candidíase disseminada com manifestação renal (COLOMBO & GUIMARÃES, 2007).

Considerando a importância da cultura de sangue e urina no diagnóstico auxiliar da candidíase invasiva, o estudo objetivou identificar a frequência de urocultura e hemocultura positiva na candidíase experimental sistêmica.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido de acordo com as normas estabelecidas pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), sendo utilizados 12 ratos wistar machos e adultos, os quais foram mantidos em ambiente com condições controladas de temperatura e umidade, recebendo ração de acordo com peso corporal e água *ad libitum*, durante 30 dias.

Em todos animais foi administrado acetato de hidrocortisona, na dose de 100mg/Kg, via subcutânea, sete dias antes da inoculação e uma vez por semana durante o período experimental. Além disso, foi adicionado 0,5mg/mL hidrocloridrato de tetraciclina na água de beber dos animais, para controle das infecções bacterianas secundárias, segundo preconizado por Yamaguchi (1987).

Para preparação do inóculo utilizou-se isolado de campo de *Candida albicans* proveniente de caso clínico animal (Cleff et al., 2007), sendo este ajustado a escala 0,5 de McFarland com aproximadamente 2×10^6 UFC/mL da levedura. Os animais foram previamente anestesiados e inoculados na veia lateral da cauda com 0,1mL de suspensão fúngica, sendo acompanhados diariamente, por 30 dias.

A coleta de sangue foi realizada por punção cardíaca, após indução anestésica, sendo este encaminhado para exames laboratoriais. A eutanásia foi realizada em três animais por semana, através de anestesia profunda. Durante a necropsia observou-se a macromorfologia dos órgãos em busca de alterações compatíveis com candidíase sistêmica e coletou-se ainda, urina dos animais por punção vesical. Os órgãos como, fígado, rins e cérebro foram encaminhados para exame micológico e histopatológico. O sangue, urina e os órgãos foram cultivados, em duplicata, em placas contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, sendo incubadas a 35°C por 48h para retroisolamento do agente.

Após o crescimento realizou-se análise macro e micromorfológica destas colônias, além da prova do tubo germinativo e microcultivo em ágar fubá para confirmação da espécie (LACAZ et. al, 1998).

Resultados e Discussão

Durante o período experimental, os ratos apresentaram apatia, emagrecimento, nódulos cutâneos e alterações neurológicas como andar em círculos, lateralidade da cabeça e incoordenação. Em experimento murino, com a forma sistêmica da enfermidade, avaliou-se a diferença na patogenicidade da candidemia por *C. albicans* e *C. krusei*, demonstrando que os animais

inoculados com *C. albicans* vieram a óbito, enquanto que naqueles inoculados com *C. krusei* não apresentaram óbito, demonstrando a maior patogenicidade de *C. albicans* (ANAISSIE et. al, 1993).

Os achados de necropsia revelaram comprometimento geral dos órgãos, com lesões macroscópicas em forma nodulares e esbranquiçadas, compatíveis com candidíase sistêmica, sendo que os principais órgãos envolvidos foram rins, fígado e sistema nervoso central, no qual este apresentou perda das circunvoluções e alteração de sua consistência. Estas lesões foram compatíveis a um estudo realizado no mesmo modelo experimental com inoculação sistêmica de *C. albicans* (ANAISSIE et. al, 1993).

Todos os animais estudados apresentaram envolvimento renal com formação de microabcessos no córtex, porém nem todos apresentaram candidúria, evidenciando a necessidade de várias coletas de urina para se estabelecer o diagnóstico de certeza quando se suspeita de candidíase invasiva. Estudos em modelo experimental, avaliando a patogenicidade de duas espécies de *Candida*, demonstraram que o isolamento da levedura nos pulmões e fígados diminui, enquanto que nos rins houve a persistência do agente, sendo que a urocultura contribuiu para o diagnóstico da candidemia (ANAISSIE et. al, 1993). De acordo com Colombo & Guimarães (2003), 40 a 60% dos pacientes que desenvolvem candidemia morrem durante o período de internação, sendo a alta mortalidade decorrente em parte ao diagnóstico tardio.

No cultivo para retroisolamento do agente, observou-se crescimento de colônias leveduriformes em todos os órgãos. A partir das amostras de urina 33%(4/12) foram positivas, enquanto que 25%(3/12) das amostras do sangue apresentaram crescimento, apenas um animal com candidúria não apresentou hemocultura positiva.

Estudos avaliando hemocultura e urocultura em animais não foram encontrados na literatura consultada, entretanto os resultados concordam com dados de pacientes humanos. Estudo realizado em hospital humano isolou-se *Candida* spp de 100 pacientes avaliados através da urocultura, sendo identificado *C. tropicalis* em 53% e *C. albicans* em 36% destes casos. Os principais fatores predisponentes envolvidos com candidúria foram: antibioticoterapia prévia (93%), sonda vesical de demora (83%), cirurgia nos últimos 60 dias (48%), insuficiência renal (32%), infecção bacteriana simultânea (28%) e uso de corticosteróides (20%) ou imunossupressores (10%) (COLOMBO & GUIMARÃES, 2007). Bodey et. al em 2002 desenvolveu um estudo epidemiológico de candidemia em pacientes com câncer no qual identificou, através da hemocultura, 126 casos de *C. glabrata* e 116 de *C. albicans*, demonstrando que a infecção sistêmica pode ocorrer por outras espécies do gênero que não *C. albicans*, despertando assim, uma maior atenção na terapia a ser escolhida para pacientes imunocomprometidos e para a obtenção do diagnóstico de certeza precoce.

Conclusão

Os resultados demonstram que a utilização de análises seriadas de urina e sangue, podem contribuir e acelerar o diagnóstico de candidíase sistêmica, a fim de se instituir uma terapia correta que possa beneficiar o paciente.

Agradecimentos

CNPq, CAPES e FAPERGS

Referências Bibliográficas

ANAISSE, E.; HACHEM, R.; K-TIN-U, C.; STEPHENS, L.C.; BODEY, G.P. Experimental Hematogenous Candidiasis Caused by *C. krusei* and *C. albicans*: Species Differences in Pathogenicity. **Infection and Immunity**, Apr., 1268-1271p, 1993.

BODEY, G.P.; MARDANI, M.; HANNA, H.A.; BOKTOUR, M.; ABBAS, J.; GIRGAWY, E.; HACHEM, R.Y.; KONTOYIANNIS, D.P.; RAAD, I.I. The Epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* Fungemia in Immunocompromised Patients With Cancer. **The American Journal of Medicine**. v.112: 380-85, 2002.

CLEFF, M.B.; SILVA, G.M.; MEINERZ, A.R.M.; MADRID, I.M.; MARTINS, A.A.; FONSECA, A.O.; NASCENTE, P.S.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO J.R.B. Infecção cutânea em cão por *Candida albicans*. **Rev. Vet. Zoot.**, 2:14, 2007.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* sp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 36 (5): 599-607, 2003.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 40(3):332-337, 2007.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. **Guia para identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier, 1998, p. 497.

MORETTI, A., B. POSTERARO, L. BONCIO, L. MECHELLI, E. GASPERIS, F. AGNETTI; M. RASPA. Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnostic by PCR-REA. **Rev. Iber. Micol.**, v.21, p.139-142, 2004.

MORETTI, A.,L. BONCIO, B. POSTERARO, L. MECHELLI; M. BALDUCCI. Co-cutaneous infection in a dog: pcr-reverse identification of *C. tropicalis* on skin biopsy. **J. Mycol. Med**. v.16, p.30-36, 2006.

MUELLER, R.S.; BETTENAY, S.V.; SHIPSTONE, M. Cutaneous Candidiasis in a dog, caused by *Candida guilliermondii*. **Vet. Rec.**, v.150, p.728-730, 2002.

YAMAGUCHI, H. In: MIYAJI, M. **Opportunistic Fungal Infections. Candidiasis in Animal Models in Medical Mycology**. CRC Press: Boca Raton, 1987, p.111-112 e 144-151.

YAMAGUCHI, H. (1987). In: M. Miyaji (Ed.1). **Opportunistic Fungal Infections. Candidiasis in Animal Models in Medical Mycology.** CRC Press: Boca Raton. p.111-112 e 144-151, 1987.