

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DAS LESÕES CAUSADAS POR *Candida albicans* EM RATOS TRATADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare*

SERRA, Emanoele Figueiredo¹; GOMES, Angelita dos Reis², CLEFF, Marlete Brum³; CRUZEIRO, Maria Elvira Sica⁴. MEIRELES, Mário Carlos Araújo⁵

¹Graduanda em Medicina Veterinária – UFPel, Bolsista PROBIC/CNPq emanoele.serra@gmail.com;

²Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel;

³Prof^o Adjunto - Departamento de Clínicas Veterinária - Faculdade de Veterinária – UFPel;

⁴Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel;

⁵Prof^o Associado – Departamento Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária – UFPel

1 INTRODUÇÃO

Em medicina veterinária, *Candida* é comumente observada como comensal de animais domésticos, silvestres, pássaros e anfíbios (MORETTI et al., 2004; JACOBSEN et al., 2008). Doenças como desordens cutâneas, mastites, estomatites, e candidíases das mucosas são infrequentes (MULLER et al., 2002; JADHAV & PAL, 2006; BRITO 2009) embora se observe evidente aumento dos casos relatados (BLANCO & GARCIA, 2008; MATSUDA, 2009).

Os antifúngicos azóis são usados como primeira escolha terapêutica no tratamento de infecções por *Candida*, entretanto as consequências do longo tempo de exposição podem determinar a resistência do agente através de vários mecanismos, além de problemas relacionados ao espectro de atividade e toxicidade (NOBRE et al., 2002). Neste contexto os óleos essenciais e extratos naturais demonstram possuir um alto valor terapêutico (ROSATO et al., 2009).

Em micologia, destacam-se pesquisas sobre o potencial farmacêutico do *Origanum vulgare L* (orégano), cujo óleo essencial é rico em compostos fenólicos, tais como carvacrol, timol, alfa terpineol, gama terpineol, responsáveis pelos seus efeitos antibacterianos, antioxidantes e antifúngicos (MANOHAR et al., 2001; DE VICENZI et al., 2004). Testes *in vitro* e *in vivo* comprovam que o óleo essencial do orégano tem ação antifúngica contra *Candida albicans* (MANOHAR et al., 2001), esse efeito foi comprovado também quando testado em fungos de outros gêneros como *Sporothrix* e *Aspergillus* (CLEFF, 2008; CARMO, 2008), além de não ter demonstrado reações de toxicidade pré-clínica em testes *in vivo* (CLEFF, MB, 2008; SANTOS, M F.2011).

Desta forma este estudo objetiva avaliar histologicamente a ação do óleo essencial de *Origanum vulgare L* em concentrações de 1.5% e 3.0% utilizado em candidíase sistêmica.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O experimento foi realizado em 48 ratos Wistar, distribuídos em quatro grupos de 12 animais, sendo: T1 = tratado com 0,5ml de emulsão de óleo a 1,5% contendo 0,001% de Tween 80; T2 = tratado com 0,5ml emulsão de óleo a 3% contendo 0,001% de Tween 80; T3= 0,5ml de Fluconazol (10mg/kg); T4=suspensão com 0,001% de Tween 80. Os animais foram inoculados com suspensão de 10⁶ cel/mL

de *Candida albicans* e receberam previamente acetato de hidrocortisona 100 mg/Kg e 0,5mg/mL de hidrocloreto de tetraciclina na água. Foi realizado tratamento diariamente durante 30 dias, no final dos quais os animais foram necropsiados. Fragmentos de tecidos do rim, baço, fígado e encéfalo de dez animais de cada grupo, a exceção de T4 com seis animais, foram avaliados. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina-eosina (HE) e ácido periódico de Schiff (PAS) para análise da reação inflamatória e presença do agente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A infecção causada por *Candida albicans* ocorre através da penetração desta nos tecidos, sendo este evento dependente de diversos fatores, principalmente associada a quadros de neutropenia do hospedeiro. Macrófagos e neutrófilos são as principais células atuantes na defesa do organismo nas infecções por *Candida*, sendo também as células dendríticas capazes de internalizar tanto os blastoconídios quanto as hifas de *Candida albicans*.

Histologicamente as lesões apresentaram reação tecidual característica causada por fungos, do tipo piogranulomatosa, mostrando a presença de infiltrado macrófágico difuso, células epitelióides, células gigantes, neutrófilos, linfócitos e plasmócitos (ACKERMANN, 2009). Foi observado que o órgão mais afetado foi o rim, conforme descrito pela literatura, onde estudos demonstram que *Candida* tem tropismo pelos rins, tendo sido demonstrado 90% de envolvimento renal em pacientes que foram à necropsia após candidíase generalizada (SOUTO E DIAS, 2003). No presente estudo foi observada destruição da zona medular por aglomerados de hifas, áreas multifocais com infiltrado de células mononucleares de linfócitos, plasmócitos e histiócitos, áreas de necrose tecidual, lesões disseminadas multifocais a coalescentes, e pielonefrite em diversos graus. O exame de isolamento fúngico na urina obteve baixas contagens fato também descrito por COLOMBO, 2007.

Os demais órgãos afetados foram fígado, baço e cérebro tendo sido confirmada a presença de *Candida albicans* na maior parte das amostras por retroisolamento. Histologicamente verificou-se hiperplasia linfóide do baço, hepatite peritoneal, encefalite granulomatosa multifocal, lesões também encontradas por BROWN, 2005. As lesões encontradas no sistema nervoso central encontradas também por SANCHÉZ-PORTOCARRERO et al., 2000, ocorreram na forma de necrose focal rodeada por leucócitos polimorfonucleares, ou granuloma não caseoso com células gigantes que podem conter leveduras ou hifas no seu interior.

Os dados preliminares do exame histopatológico destes órgãos não revelam diferenças significativas entre os grupos testados quanto à reação inflamatória e grau de lesões esperadas em casos de candidíase sistêmica.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos até o presente momento evidenciam que não houve diferenças histológicas entre os grupos utilizando diferentes concentrações de orégano a 1,5% e 3%. As lesões observadas se localizaram em sua maioria na parte

dos rins. Órgãos como baço e fígado foram menos afetados, entretanto, também foram observadas lesões e presença da levedura nesses órgãos. Não foram encontradas diferenças nas lesões microscópicas na quantidade nem na distribuição de lesões pelos órgãos até o presente momento.

5 REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, R. Mark. Inflamação crônica e cicatrização de feridas. In: McGAVIN, M. Donald; ZACHARY, F. James (4ª) **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 4, p. 153I – 174.
- BLANCO, J. L.; GRACIA, M.E. Immune response to fungal infections. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 125, p.47-70, 2008.
- BRITO, EHS, Fontenelle ROS, Brilhante SNR, Cordeiro RA, Sidrim JJC, Rocha MFG. Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. **Ciência Rural**; 9(39): p.2655-2664. 2009.
- BROWN, M.R. et al. Systemic candidiasis in an apparently immunocompetent dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, p.272-276, 2005.
- CARMO, Egberto Santos; LIMA, Edeltrudes de Oliveira; SOUZA, Evandro Leite de. The potential of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 39, n. 2, June 2008.
- CLEFF, M.B. et. al. Toxicidade pré-clínica em doses repetidas do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) em Ratas Wistar. **Latin American Journal of Pharmacy**, Pelotas, v.27, n.5, p. 704-709, 2008.
- CLEFF, M.B. et al . Atividade in vitro do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix Schenckii*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, Apr. 2008
- COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARAES, Thaís. Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 40, n. 3, June 2007
- DE VICENZI, M.; STAMMATI, A.; DE VICENZI, A.; SILANO, M. Constituents of aromatic plants: carvacrol. **Fitoterapia**, v. 75, p. 801–804, 2004.
- JADHAV, V.J.; PAL, M. Canine mycotic stomatitis due to *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micologia**,v.23, p.233-234, 2006.
- MANOHAR, V.; INGRAN, C.; GRAY, J.; NADEEN, A.; ECHARD, B.W.; DEBASIS, B.; PREUSS, H. G. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.228, p. 111–117, 2001.
- Matsuda K, Sakaguchi K, Kobayashi S, Tominaga M, Hirayama K, Kadosawa T, et al. Systemic Candidiasis and Mesenteric Mast Cell Tumor with Multiple Metastases in a Dog. **Journal Veterinary Medicine Science** 2009; 2(71): 229–232
- MORETTI A, POSTERANO B, BONCIO L, MECHELLI L, GASPERIS E, AGNETTI F, et al. Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. **Revista Iberoamericana de Micologia**; n. 21, p. 139–142, 2004.

MUELLER, R.S. et al. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondii*. **Veterinary Record**, v.150, p.728-730, 2002.

NOBRE, M. O; NASCENTE, P.S., MEIRELES, M. C. A., FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.1, p. 175-184, 2002.

ROSATO, A.; VITALI, C.; PIARULLI, M.; MAZZOTTA, M.; ARGENTIERI, M. P.; MALLAMACI, R. In vitro synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some *Candida* species **Phytomedicine**, v.16, p. 972–975, 2009

SÁNCHEZ-PORTOCARRERO, J .The central nervous system and infection by *Candida* Species. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**,v. 37, p. 169–179, 2000.

SANTOS, M F. **Estudo do potencial genotóxico do óleo essencial de *origanum vulgare* L. (orégano) em ratos wistar, através do teste de micronúcleos.** Tese de Mestrado em Ciências Veterinárias. Porto Alegre. 25 de Março de 2011.

SOUTO, C.A.V., DIAS, B.S. Infecção do Trato Urinário por Fungos. **Internacional Brazilian Journal Urology**,v.29,s.3, p. 21-27, 2003.