



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

CRISTIANE MARTINS CUNHA

**RESPOSTA ANTICÓRPICA LOCAL E SISTÊMICA
ESPECÍFICA A *C. albicans* EM PACIENTES COM
CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

**Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas como requisito para
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas**

**UBERLÂNDIA – MG
FEVEREIRO/03**

Agradecimentos

À Deus, aos meus orientadores, à
minha família e a todos que
colaboraram de alguma forma para a
realização desse trabalho.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CRISTIANE MARTINS CUNHA

**RESPOSTA ANTICÓRPICA LOCAL E SISTÊMICA
ESPECÍFICA A *C. albicans* EM PACIENTES COM
CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

ORIENTADOR: PROF. Dr. ERNESTO AKIO TAKETOMI
CO-ORIENTADORES: Dra. DEISE APARECIDA DE OLIVEIRA SILVA
Dra. PAULA SILVA ABREU MORAES

UBERLANDIA-MG
2003

SUMÁRIO:

INTRODUÇÃO.....	4
OBJETIVOS.....	11
METODOLOGIA.....	12
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

INTRODUÇÃO

Os fungos são seres vivos eucarióticos, heterotróficos, ubiqüitários podendo ser saprofíticos e/ou oportunistas. A maioria são aeróbios obrigatórios e apresenta enzimas que hidrolizam o substrato tornando-os assimiláveis através de transporte ativo e passivo. Os fungos apresentam parede celular composta por quitina, complexos polissacarídeos e proteínas, além de alguns fungos armazenarem glicogênio (TRABULSI, 1996).

As formas físicas que os fungos podem apresentar são leveduras, as quais possuem um só núcleo, são geralmente pastosas e estão na forma vegetativa e, os bolores (ou fungos filamentosos), são filamentos multicelulares na forma de tubo. Suas células são independentes entre si e não formam tecidos. Esses filamentos são chamados de hifas e podem apresentar-se como cenocíticas, septadas ou contínuas. O conjunto de hifas chama-se micélio, que possui designação de vegetativo à região responsável pela sustentação/fixação no substrato e absorção de nutrientes e de micélio aéreo o que se projeta da superfície, o qual pode sustentar os corpos de frutificação na fase reprodutiva. A maioria dos fungos apresenta reprodução assexuada por expansão do próprio micélio através de brotamento, gemulação ou fissão binária. Aos que apresentam reprodução sexuada distinguem-se as fases teleomórfica e anamórfica (TRABULSI, 1996).

O reino Fungi é composto por seis filos (ou divisões), dentre os quais quatro são de importância médica: *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Zygomycota* e *Deuteromycota*, sendo este último o de maior importância clínica. Caracterizam-se por serem hifas septadas que se multiplicam apenas por conídios (esporos assexuais), em que não se

observou reprodução sexuada (JAWETZ *et al.*, 1988). Geralmente, os fungos de importância médica apresentam dimorfismo.

Na divisão *Deuteromycota*, subdivisão *Deuteromycotina*, classe *Deuteromycetes*, ordem *Cryptococcales*, família *Cryptococaceae*, é que se encontra o gênero *Candida*, o qual engloba cerca de duzentas espécies heterogêneas em suas características (WARREN *et al.*, 1999; LUNA, 1997). Especificamente a *Candida albicans* faz parte da flora normal de indivíduos saudáveis. É um fungo gram-positivo, dimórfico, de baixa virulência encontrado nos tratos respiratório, geniturinário, gastrointestinal e pele. Quando o fungo invade a mucosa dá-se início da infecção clínica sintomática e os mecanismos de conversão da forma comensal para a patogênica são pouco conhecidos. Com isso, conclui-se que grande parte dessas infecções são de origem endógena e acometem indivíduos com quadro imunológico comprometido, seja por doenças crônicas ou por uso de corticoesteróides ou imunossupressores por tempo prolongado. A candidíase vulvovaginal não é considerada uma doença sexualmente transmissível já que o agente causal faz parte da flora normal de indivíduos saudáveis, o que não significa que não esteja associado ao sexo (MORAES *et al.*, 2000a; MORAES, 1996).

A candidíase pode manifestar-se nas formas cutaneomucosa ou sistêmica; a última é de difícil diagnóstico *in vivo*. Pode ocorrer lesões alérgicas secundárias, distantes do foco ativo, que se caracterizam por serem estéreis, agrupadas ou vesiculares (TRABULSI, 1996). *C. albicans* provoca reações alérgicas responsáveis por quadros de vaginite, balanopostites, asma, rinite, urticária, dermatite atópica e intolerâncias alimentares (GIRARD, 1985).

Candidíase vulvovaginal é uma entidade ginecológica frequente, estimando-se que a maioria das mulheres (75%) irá apresentar ao menos um episódio da infecção no decorrer de sua vida e 40% terão um segundo episódio (HURLEY, 1981). Além disso, estudos epidemiológicos revelam que 70% das pacientes com vulvocandidíase de recorrência são portadoras de rinite alérgica e relatam história familiar de alergia (MORAES, 1993; MORAES, 1995).

A candidíase vaginal de repetição caracteriza-se por quatro ou mais episódios por ano e acomete cerca de 5% das mulheres saudáveis; é mais frequente na faixa etária dos trinta anos de idade, pacientes com vida sexual ativa, nulípara ou com poucos filhos, nível educacional elevado e hábitos exagerados de higiene vulvovaginal (SPINILLO *et al.*, 1993; MORAES, 1996; MORAES, 2000; FOXMAN, 1990). As razões das recorrências permanecem indeterminadas, já que estão ausentes os fatores de risco como AIDS, endocrinopatias (diabetes mellitus, hipotireoidismo, etc), anemia, uso de medicamentos imunossupressores, antibióticos, contraceptivos orais, gravidez e imunodeficiências celulares (MORAES, 1995; MORAES, 2000a). Essa patologia de recorrência é uma entidade bastante comum na prática médica, que usualmente não responde aos anti-fúngicos locais e sistêmicos, o que deixa frustrado tanto às pacientes como seus ginecologistas (MORAES *et al.*, 2000a).

A vulvocandidíase de recorrência assemelha ao “sapinho”, causando irritação, prurido intenso, dispáurenia, ardência, disúria, queimação local, corrimento vaginal esbranquiçado e espesso, o odor é mínimo quando presente, eritema, fissuras perineais e edema de lábios e vulva (MORAES, 1996; MORAES, 2000a). Estes sintomas são exacerbados geralmente precedendo a menstruação, na fase lútea do ciclo, quando as

taxas de progesterona estão altas, melhorando após seu término e podendo variar de intensidade, conforme a quantidade de fungos do local (MORAES *et al.*, 2000).

O aumento do pH da vagina predispõe o aparecimento de *Candida*. Em condições normais, o pH vaginal é ácido, variando entre 4 e 4,5 e é mantido graças à microbiota normal que fermenta o glicogênio e produz ácido lático. A flora vaginal consiste de uma grande variedade de espécies que apresentam interações físicoquímicas entre elas e o tecido vaginal. Alterações do meio ambiente vaginal desencadeiam vaginites sintomáticas (WITKIN, 1993).

Do ponto vista imunológico, as mucosas do trato respiratório superior e genital inferior são muito semelhantes, sugerindo a ocorrência de mecanismos similares de reação de hipersensibilidade (BRANDTZAEG *et al.*, 1999). Recentemente, quadros de processos alérgicos concomitantes à candidíase vulvovaginal, principalmente a rinite alérgica, têm sido descritos (MORAES, 1995). WITKIN *et al.* (1988) tem identificado anticorpos IgE específicos a *C. albicans* no lavado vaginal de pacientes com vaginite recorrente. MORAES (1995) encontrou maior incidência de rinite alérgica em pacientes portadores de candidíase vulvovaginal de repetição comparado ao grupo controle.

A candidíase vaginal de repetição em mulheres com rinite alérgica e história familiar de alergia é uma situação muito mais comum que todas as imunodeficiências não adquiridas; porém, existem poucas publicações a respeito, o que dificulta o seu diagnóstico e tratamento (WITKIN *et al.*, 1988).

C. albicans é um potente agente patogênico em algumas situações, possuindo peculiaridades que lhe conferem virulência e patogenicidade, o que se percebe pelas variações de temperatura, sua capacidade de produzir hifas na forma micelial, pelas

características de aderência e pela atividade enzimática expressa na parede celular (ASHMAN *et al.*, 1990). Suas frações protéicas e de carboidratos podem ser reconhecidos como alérgenos. Estudos com immunoblotting mostraram que proteínas citoplasmáticas são o principal alvo dos anticorpos IgE em crianças (MORAES, 2000b). Mudanças estruturais e metabólicas associadas a transição da forma levedura-micélio implicam em alterações da expressão de antígenos na superfície celular. A forma micelial (invasiva) é a forma patogênica, presente nos tecidos infectados, já a leveduriforme é a comensal (ASHMAN *et al.*, 1990). Os mecanismos que transformam uma colonização assintomática em vulvovaginite sintomática são complexos. Durante a colonização assintomática, os organismos existem predominantemente nas formas não filamentosas e em pequena quantidade, estando em equilíbrio com a flora vaginal. Quando ocorre uma alteração desse equilíbrio, *C. albicans* causa lesões celulares e processo inflamatório pela invasão direta do tecido epitelial levando aos sintomas característicos.

Acredita-se que alguns fatores solúveis podem estar relacionados à proliferação de *Candida*, como no caso da PGE₂ e β-endorfina. Já outros como o IFN-γ inibem o crescimento (ROITT *et al.*, 1998). Nos casos das vulvovaginites alérgicas os sintomas resultantes da vaginite candidal seriam secundários e consequentes à vaginite alérgica, já que a histamina liberada é um potente indutor de PGE₂ de macrófagos e que tem a função de inibir a resposta imune mediada por células, responsável pelo combate dos fungos, com isso favorece o crescimento de tais fungos, promovendo os sintomas resultantes da doença (MORAES *et al.*, 2000a).

Não há evidências de deficiências do sistema complemento, células fagocitárias ou de imunoglobulinas nessas pacientes. Uma deficiência temporária, adquirida e

antígeno específica da função do linfócito T pode ocorrer. A redução da reatividade seria devido à elaboração de PGE_2 pelos macrófagos que inibe a função da IL-2 na proliferação dos linfócitos. Essa prostaglandina facilita o crescimento do fungo. A função anormal dos macrófagos pode ser devido a presença de anticorpos IgE anti-*Candida* na mucosa vaginal (MORAES *et al.*, 2000a).

Todas as evidências encontradas sugerem uma etiologia alérgica para determinado tipo de candidíase vaginal de repetição: desde a história familiar de atopia, a frequente associação com a rinite, a alta incidência de testes cutâneos de leitura imediata positivos contra antígenos inaláveis e candidina e boa resposta das pacientes à imunoterapia com *Candida albicans* (MORAES, 1995). O teste cutâneo de leitura tardia a antígenos de *Candida* é quase universalmente positivo em adultos normais, o que é indicativo de imunidade celular competente (JAWETZ *et al.*, 1998).

Diferentes classes de anticorpos anti-*C. albicans* (IgM, IgG, IgA) têm sido determinadas tanto no soro como em secreções cervico-vaginais de mulheres com ou sem candidíase vulvovaginal, com a finalidade de investigar o seu papel na imunopatogênese da doença (WARNOCK *et al.*, 1978; BURGESS *et al.*, 1986; ROMERO-PIFFIGUER *et al.*, 1985; GOUGH *et al.*, 1984).

Em 1988, WITKIN *et al.* detectaram anticorpos do tipo IgE anti-*Candida* na secreção vaginal de mulheres portadoras de candidíase vaginal de repetição, ocorrendo cerca de quatro anos após o início da atividade sexual regular. Tal intervalo de tempo sugere um período de sensibilização, facilitado pelo trauma da mucosa e efeito imunossupressor do sêmen na vagina (MORAES, 1996c; MORAES, 1996d).

A mucosa vaginal humana é formada por um epitélio estratificado e uma lâmina basal rica em macrófagos, linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, mastócitos e células de

Langerhans. Entre o lúmen vaginal e a lâmina basal, um sistema de canais intercelulares permite que uma resposta imunológica localizada possa ocorrer através da migração dessas células e também IgG e IgA presente em grande quantidade na forma secretória. As células de Langerhans expressam em sua superfície receptores para a porção Fc de IgG e C3, assim como antígenos de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (HLA-DR), permitindo a apresentação de antígeno ao linfócito T e o início de uma resposta imune específica (MORAES, 1996d).

Diante de tantas evidências, está claro que a mucosa vaginal está imunologicamente apta a responder um estímulo antigênico, já que tais reações alérgicas são passíveis de ocorrer em qualquer superfície mucosa e cutânea do corpo; em uma mulher atópica, não existe nenhuma razão imunofisiológica que faça com que os mediadores químicos envolvidos nessas reações não sejam também liberados no trato genital (MORAES, 1996d).

OBJETIVOS

1. Detectar anticorpos das classes IgA, IgG e subclasses (IgG1 e IgG4) específicos a *Candida albicans* no soro e lavado vaginal de pacientes com candidíase vulvovaginal.
2. Analisar o papel dos diferentes anticorpos na imunopatogênese da candidíase vulvovaginal.

METODOLOGIA

Casuística

Foram selecionadas 30 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal (grupo I) e 12 controles, na faixa etária de 18 a 35 anos atendidas no Ambulatório de Alergia e Imunologia Clínica da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) no período de março de 2001 e julho de 2001. As mulheres controles foram selecionadas dentre as pacientes que estavam realizando exames colpocitológicos de rotina para prevenção do câncer de colo uterino. Esse estudo recebeu aprovação do Comitê de ética da UFU envolvendo seres humanos e englobava a assinatura do termo de consentimento das pacientes. A seleção e os exames especulares foram feitas por um médico ginecologista.

O diagnóstico definitivo de candidíase vulvovaginal foi realizado por meio de história clínica e presença de *Candida albicans* em cultura. Swabs de secreção vaginal foram obtidos e encaminhados ao laboratório Central de análises clínicas da UFU para análise e identificação micológica por meio de ágar de Sabouraud e subsequentemente pelo CHROMagar®.

Amostras de lavado vaginal foram obtidas por meio da instilação de 5 mL de soro fisiológico estéril no fundo de saco vaginal e subsequente aspiração com a mesma seringa. As amostras foram imediatamente enviadas ao Laboratório de Imunologia da UFU, centrifugadas a 4500 rpm a 4° C por 15 min e os sobrenadantes obtidos foram armazenados a -20° C até a realização dos ensaios para a detecção de anticorpos específicos a *C. albicans*.

Amostras de sangue foram obtidas por meio de venopunção concomitantemente às amostras de lavado vaginal. Após centrifugação a 4500 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente (TA), os soros obtidos foram aliquotados e armazenados a -20°C até a realização dos testes sorológicos.

ELISA para detecção de anticorpos específicos a *Candida albicans*

Ensaio imunoenzimático (ELISA) realizados para a mensuração do nível de anticorpos (IgA, IgG, IgG1 e IgG4) específicos a *C. albicans* nas amostras de soro e lavado vaginal de pacientes e controles, segundo SILVA *et al.* (2001), com modificações. Microplacas de alta afinidade foram sensibilizadas com o extrato antigênico de *Candida albicans* (Bayer Corporation, USA), a 1:20 em tampão carbonato 0,06M, pH 9,6 durante 18 horas a 4°C . Subsequentemente, as placas foram lavadas por 6 vezes com solução salina tamponada com fosfatos 0,01M, pH 7,2 (PBS) acrescida de Tween 20 a 0,05% (PBS-T) e, subsequentemente bloqueadas com solução de PBS-T adicionada a soroalbumina bovina a 1% (PBS-T + BSA1%) por 1 hora à temperatura ambiente, sendo utilizada como diluente em todas as fases da reação. Após lavagens, amostras de soros foram adicionadas, em duplicata, na diluição 1:5 (IgG4), 1:10 (IgG, IgG1 e IgA) e em relação ao lavado vaginal as concentrações foram 1:2 para todos os anticorpos em questão e suas subclasses, em duplicata, e incubadas por 1 hora a 37°C . Em paralelo, como controle negativo dos soros e amostras de lavado vaginal, somente diluente (PBS-T e BSA) foram utilizados. Após as lavagens, anticorpos secundários respectivos foram adicionados: anti-IgA e anti-IgG humanas marcadas com peroxidase (1:1000; Sigma Chemical Co., USA) e anticorpos monoclonais anti-IgG1 (1:500; Sigma) e anti-IgG4 humanas (1:200; Sigma) por 1 hora a 37°C .

Subsequentemente, foi adicionado anti-IgG de camundongo-peroxidase (1:500, Sigma) para os anticorpos monoclonais, incubando-se por 30 minutos a TA. A reação foi desenvolvida pela adição de substrato enzimático (ABTS a 0,01M e 0,03% de H₂O₂) e os valores de DO (densidade óptica) foram determinados por 405nm em leitor de ELISA (Titertek Multiskan Plus, Flow Laboratories, USA). Os resultados foram expressos em unidades de Reatividade ELISA (UE) e calculados pela fórmula, $UE = DO \text{ líquida (DO amostra - DO controle negativo)} \times \text{fator de diluição}$, como proposto por Yi *et al.* (2002).

Análise Estatística

A análise estatística consistiu de determinações de média aritmética e desvio padrão dos níveis de anticorpos (UE) específicos a *Candida albicans* e as diferenças entre as médias foram analisadas pelo teste *t* de Student. Diferenças foram consideradas como estatisticamente significativas para $p < 0,05$.

Normas de Biossegurança

Os procedimentos realizados em todas as etapas, coleta de material no Ambulatório de Ginecologia, realização dos procedimentos em análises clínicas e a realização dos experimentos no Laboratório de Imunologia, seguiram as normas de Biossegurança (CHAVES-BORGES & MINEO, 1997).

RESULTADOS

Dentre as 30 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vaginal, 15 (50%) apresentaram positividade para *C. albicans* em cultura de secreção vaginal, 11 (36,7%) foram negativas e 4 (13,3%) foram positivas para outras espécies de *Candida* sp, as quais foram excluídas das análises por serem de outras espécies de *Candida*. Entre as 12 mulheres controles, 9 (75%) apresentam cultura negativa enquanto 3 (25%) foram positivas para *C. albicans*. Devido ao reduzido número de mulheres controles com cultura positiva, qualquer diferença significativa encontrada não foi considerada estatisticamente relevante, portanto este subgrupo foi excluído para análises estatísticas.

Respostas de anticorpos IgA e IgG anti-*C. albicans* em amostras de soro e lavado vaginal de pacientes sintomáticas (grupo I) e controles/assintomáticas (grupo II) com cultura vaginal positiva (cultura +) ou negativa (cultura -) estão demonstradas na figura 1. Pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal (grupo I) com cultura positiva apresentaram níveis médios de IgA anti-*C. albicans* em amostras de soro significativamente menores do que aquelas com cultura negativa (5,83 versus 7,55 EU; $p = 0,0453$). Por outro lado, em amostras de lavado vaginal, níveis de IgA específica foram significativamente maiores em pacientes com cultura positiva (1,19 versus 0,51 EU; $p = 0,0422$). Em relação aos níveis de anticorpos IgG total específica em amostras de soro e lavado vaginal não apresentaram diferenças significativas tanto em pacientes como em mulheres controles, independentemente dos resultados de cultura vaginal.

A resposta anticórpica de subclasses IgG1 e IgG4 anti-*C. albicans* está ilustrada na figura 2. Similarmente, níveis séricos de IgG1 e IgG4 específicas não mostraram

diferenças significativas entre os grupos e respectivos subgrupos. Entretanto, em amostras de lavado vaginal, os níveis de IgG1 e IgG4-anti-*C. albicans* foram significativamente maiores em pacientes com sintomas clínicos e cultura vaginal positiva que aquelas com cultura negativa (1,65 versus 0,20; $p = 0,0016$ e 0,60 versus 0,20; $p = 0,0082$, respectivamente).

A Figura 3 demonstra a relação IgG1/IgG4 específica a *C. albicans* tanto em amostras de soro como no lavado vaginal de ambos os grupos. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada para as amostras de soro, porém em amostras de lavado vaginal, observou-se uma tendência (no limite de significância) para uma relação IgG1/IgG4 aumentada no grupo de pacientes com sintomas clínicos e cultura positiva em comparação àquelas com cultura negativa (2,90 versus 1,65; $p = 0,0558$).

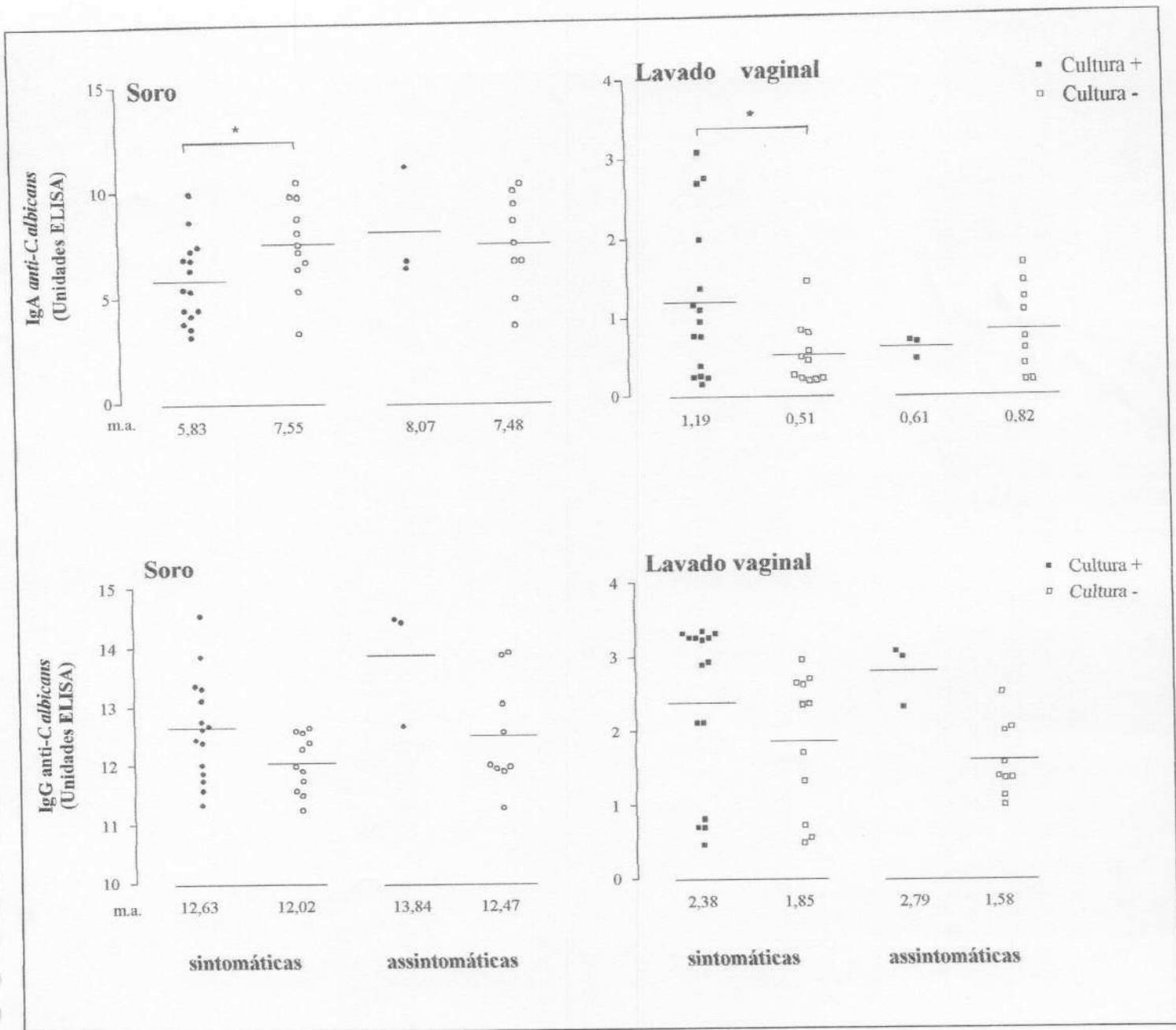


Figura 1. Níveis de anticorpos IgA e IgG anti-*C. albicans*, expressos em Unidades de Reatividade ELISA, em amostras de soro e lavado vaginal de 26 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal e de 12 mulheres sem sintomas clínicos (controles), de acordo com resultado da cultura de secreção vaginal a *C. albicans*. As barras horizontais indicam as médias aritméticas (m.a.) para cada grupo.

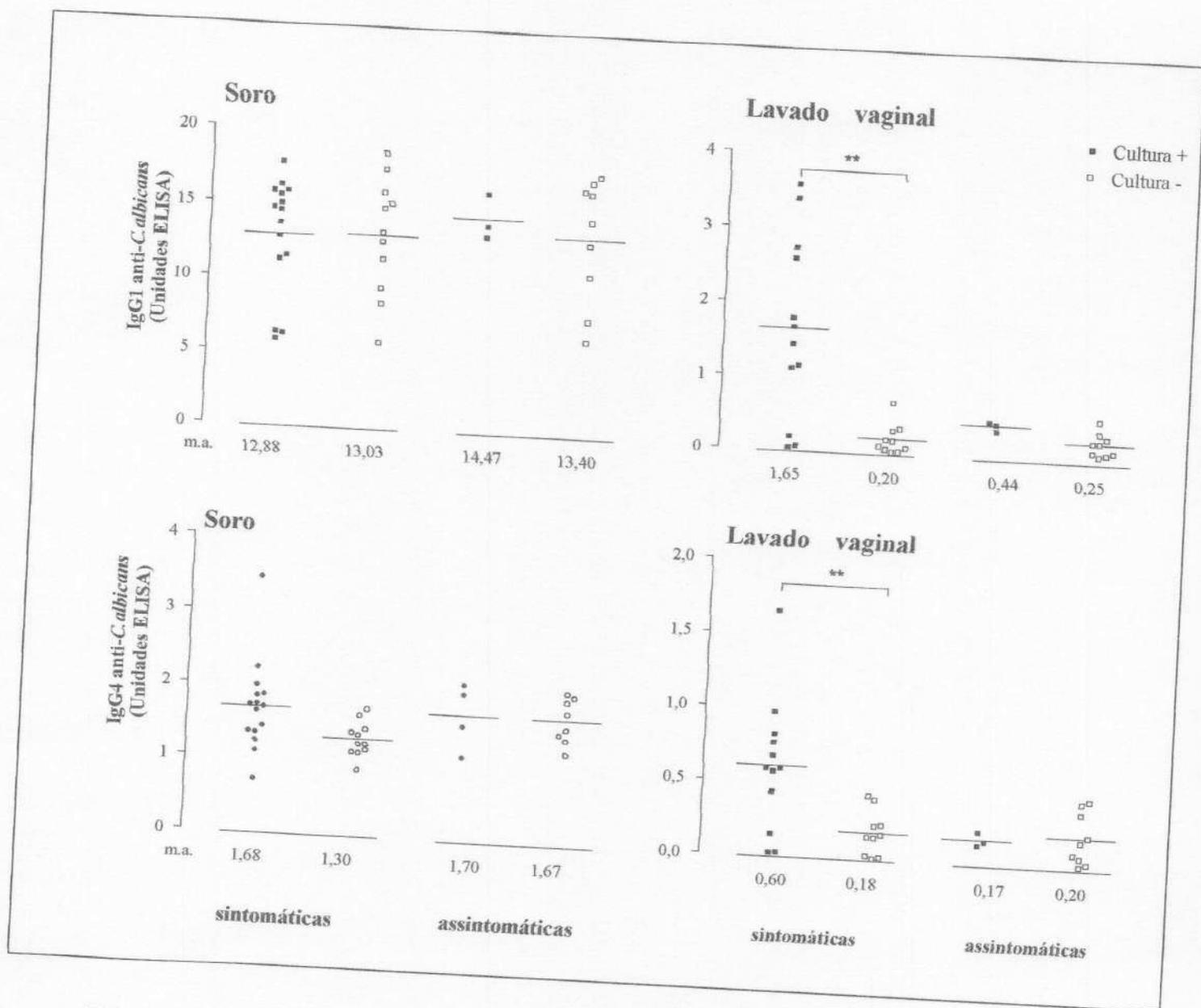


Figura 2. Níveis de subclasses de anticorpos IgG (IgG1 e IgG4) anti-*C. albicans*, expressos em Unidades de Reatividade ELISA, em amostras de soro e lavado vaginal de 26 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal e de 12 mulheres sem sintomas clínicos (controles) de acordo com resultado da cultura de secreção vaginal a *C. albicans*. As barras horizontais indicam as médias aritméticas (m.a.) para cada grupo.

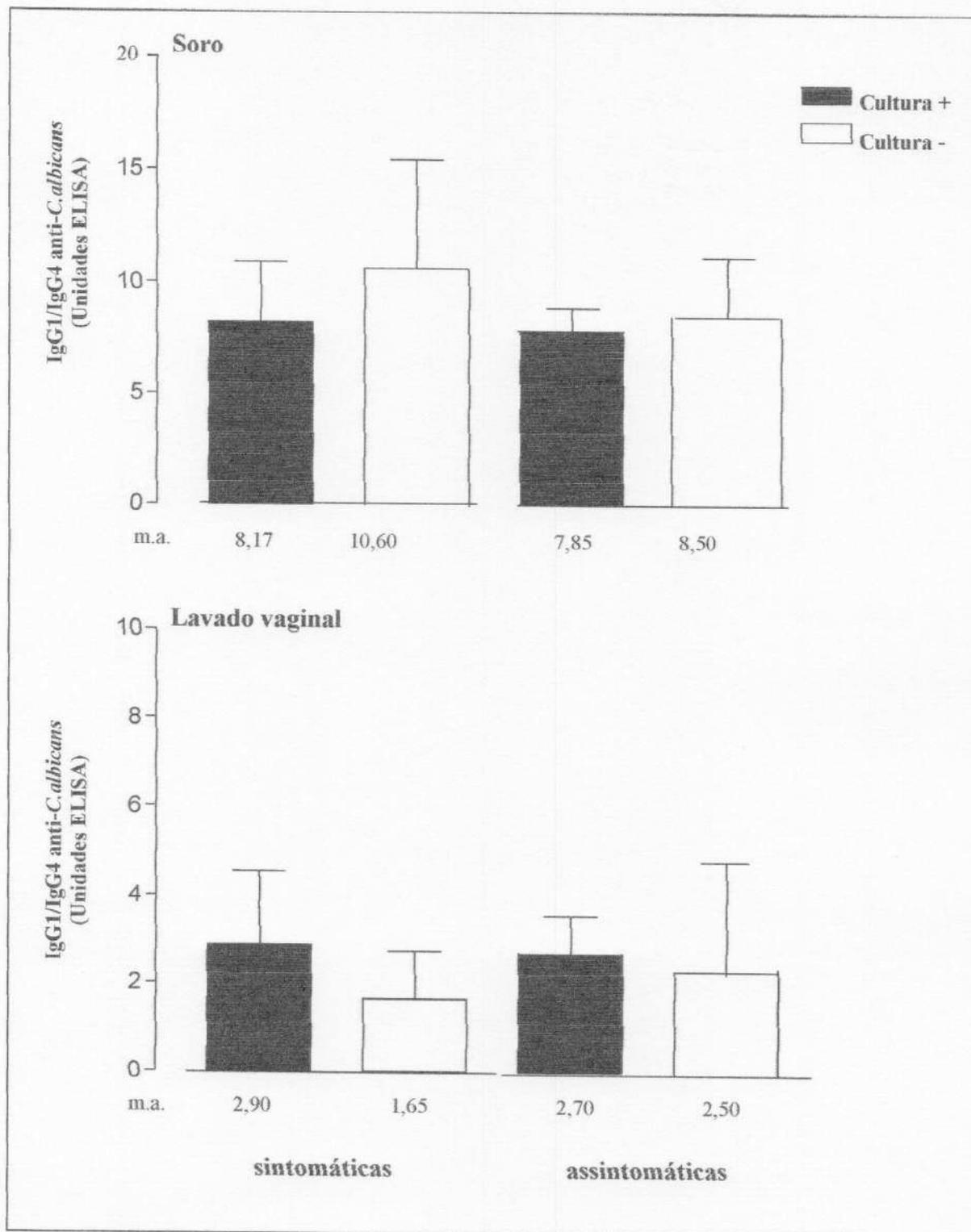


Figura 3. Relação dos níveis de IgG1/IgG4 anti-*C. albicans*, em amostras de soro e lavado vaginal de 26 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal e de 12 mulheres sem sintomas clínicos (controles), de acordo com resultado da cultura de secreção vaginal a *C. albicans*.

DISCUSSÃO

Dados da literatura têm mostrado que 85-90% dos fungos isolados de secreção vaginal são identificados como *Candida albicans*. Entretanto, porcentagens crescentes de infecções por outras espécies de *Candida* têm sido relatadas. Muitas mulheres são portadoras assintomáticas de *C. albicans* quando em baixo número. Estas observações são compatíveis com o conceito de que *C. albicans* é considerada como um comensal ou patógeno vaginal, indicando que as alterações no ambiente vaginal do hospedeiro são necessárias para induzir os seus efeitos patológicos ou estar associado com sintomas (SOBEL, 1993).

Entre os fatores predisponentes à candidíase vulvovaginal, destacam-se as condições que induzem imunodepressão, tais como a gravidez, o diabetes, o uso de corticosteróides e AIDS, ou o uso de antibióticos que alteram a flora normal vaginal. No presente estudo, tais fatores não foram avaliados, uma vez que foram considerados como critérios de exclusão na formação dos grupos. Desta forma, para análises comparativas foram avaliadas pacientes sintomáticas (grupo I) com cultura de secreção vaginal positiva ou negativa para *C. albicans* e assintomáticas (grupo II) com cultura negativa.

Os resultados mostraram diferente resposta anticórpica de IgA anti-*C. albicans* dependendo do compartimento imunológico (soro e lavado vaginal) analisado em pacientes com sintomas clínicos de candidíase, indicando uma resposta local mais acentuada nas pacientes com cultura positiva, enquanto a resposta sistêmica está mais acentuada nas pacientes com cultura negativa. Isto poderia refletir que a síntese de anticorpos IgA associada à mucosas estaria sendo estimulada na vigência da infecção

ativa ao passo que a resposta sistêmica (presença de IgA no soro) poderia refletir uma exposição anterior. Por outro lado, altos níveis de anticorpos IgG total anti-*C. albicans* foram encontrados tanto no soro como no lavado vaginal em ambos os grupos, independente da presença do fungo, indicando a exposição constante ao agente, refletindo na existência de memória imunológica. Estes dados são concordantes com os de BURGESS *et al.* (1986) que encontraram IgG como classe de anticorpo predominante em pacientes com candidíase vulvovaginal. Entretanto, estudos anteriores não têm encontrado diferença significativa nos níveis de IgA específica como os de BOHLER *et al.* (1994) e GOUGH *et al.* (1984) ou IgG específica como os de GOUGH *et al.* (1984) no soro e/ou secreções vaginais de pacientes com ou sem candidíase.

Enquanto a resposta sistêmica e local de IgG total específica a *C. albicans* não apresentou diferença significativa entre os grupos, o perfil de resposta das subclasses de IgG (IgG1 e IgG4) específica mostrou que ambas estão aumentadas no lavado vaginal de pacientes sintomáticas com cultura positiva quando comparadas com aquelas sintomáticas com cultura negativa, indicando um importante papel destas subclasses na resposta imune local estimulada pela presença do fungo, ao contrário do que foi observado na resposta sistêmica destas subclasses. Analisando a relação IgG1/IgG4 específicas a *C. albicans* pôde-se notar nítida tendência de aumento dessa relação no grupo de pacientes com sintomas clínicos e cultura positiva comparativamente aquelas com cultura negativa, sugerindo que a resposta de IgG1 possa estar predominantemente envolvida para a resolução da infecção fúngica.

CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam resposta acentuada de anticorpos IgA, IgG1 e IgG4 anti-*C. albicans* no lavado vaginal de pacientes sintomáticas com cultura positiva, sugerindo um importante papel destes anticorpos na resposta imune local estimulada pela presença do fungo.

Esta investigação representa um dos primeiros estudos relacionados às subclasses de IgG específicas a *C. albicans* e estudos futuros deverão ser realizados para esclarecer o papel protetor ou imunopatológico das subclasses de IgG em pacientes portadores de candidíase vulvovaginal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHMAN, R. B., PAPADIMITRIOU, J. M., OTT, A. K., WARMINGTON, J. R.
Antigens and immune responses in *Candida albicans* infection. *Immunol Cell Biol.*
1990; 68:1-13.
- BRANDTZAEG, P., FARSTAD, I. N., HARALDSEN, G. Regional specialisation in
the mucosal immune system: primed cell do not always home along the same track.
Immunology Today. 1999, 20:267-276.
- BOHLER, K., KLADE, H., POITSCHKEK, C., REINTHALLER, A.
Immunohistochemical study of in vivo and in vitro IgA coating of *Candida* species
in vulvovaginal candidiasis. *Genitourin-Med* 1994, 70(3): 182-6.
- BURGES, G. HOLLEY, H. P. JR, VIRELLA G. Immunoglobulin class of anti-Candida
antibodies in patients with vaginal candidiasis. *Diagn Immunol* 1986; 4 (1) 43-46.
- CHAVES-BORGES, F. A., MINEO, J. R. Medidas de biossegurança em laboratórios
em Uberlândia: EDUFU (editora da UFU), 55 p, 1997.
- FOXMAN, B. The epidemiology of candidal vulvovaginitis. Risk factors. *Am J Public
Health.* 1990; 80:329-331.

- GOUGH P. M., WARNOCK D. W., RICHARDSON M. D., MANSELL N. J., KING J. M. IgA and IgG antibodies to *Candida albicans* in the genital tract secretions of women with or without vaginal candidosis. *Sabouraudia* 1984; 22(4):265-71.
- GIRARD, J. P. Les levedures opportunistes. Repenser le rôle de *C. albicans*. *Med Hyg.* 1985; 43:2711-2713.
- HURLEY, R. Recurrent *Candida* infection. *Clin Obstet Gynecol* 1981, 8: 209.
- JAWETZ, E., MELNICK, J. L., ADELBERG, E. A. Micologia. In: *microbiologia médica*. Rio de Janeiro, 1998. Guanabara koogan. 20ª ed. p. 420-421, 483-485.
- LUNA, M. A. Candidíase. In: CONNOR, D. H. *et al. Pathology of Infectious Diseases*, Connecticut: Appleton & Lange, 1997. v.II. p. 953-964.
- MORAES, P. S. A. Candidíase vaginal de repetição - a contribuição do alergista. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 1993; 16(4):155-156.
- MORAES, P. S. A. Estudo da associação entre a candidíase vaginal de repetição e a rinite alérgica. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 1995; 18(3):86-90.
- MORAES, P. S. A. Eficácia da imunoterapia na candidíase vaginal de repetição – estudo prospectivo. *Rev Bras Alerg Immunopatol;* 1996a; 19(1):23-28.

- MORAES, P. S. A. Relação sexual: principal fator desencadeante na candidíase vaginal de repetição. Estudo no tempo decorrente entre o início da atividade sexual regular e a candidíase de repetição. *J Bras Ginec.* 1996b; 106(8):295-299.
- MORAES P. S. A. Candidíase alérgica: considerações e revisão de literatura. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 1996c; 19(6):249-251.
- MORAES, P. S. A. Vulvovaginites alérgicas. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 1996d; 19(2):51-54.
- MORAES, P. S. A., TAKETOMI, E. A. Allergic vulvovaginitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000a; 85:253-267.
- MORAES. P. S. A., GOIABA, S. L., TAKETOMI, E. A. *Candida albicans* allergen immunotherapy in recurrent candidiasis. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2000b; 10(5):0-00.
- ROITT, I., BROSTOFF, J., MALE, D. Immunity to bacteria and fungi. In: *Immunology.* Barcelona, Spain, 1996. 4th ed. p. 17.11, 17.13.
- ROMERO-PIFFIGUER, M. D., VUCOVICK, P. R. RIERA, C. M. Secretory IgA and secretory component in women affected by recidivant vaginal candidiasis. *Mycopathologia.* 1985, 91(3): 165-70.

- SILVA, D. A. O.; GERVÁSIO, A. M.; SOPELETE, M. C.; ARRUDA-CHAVES, E.; ARRUDA, L. K.; CHAPMAN, M. O.; SUNG-SANG, J. S.; TAKETOMI, E. A. A sensitive reverse ELISA for the measurement of specific IgE to Derp2, a major *Dermatophagoides pteronissinus* allergen. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2001; 86:545-550.
- SOBEL, J.D. Candidal Vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36(1):153-65.
- SPINILLO, A., PIZZOLI, G., COLONNA, L. Epidemiologic characteristic of women with idiopathic recurrent candidal vulvovaginitis. *Obstet & Gynecol.* 1993; 81:721-727.
- TRABULSI, L. R. Micologia. In *Microbiologia*. São Paulo, 1996, Atheneu. 2ªed. p 239-251, 285-286.
- WARNOCK, D. W., MILNE, J. D., FIELDING, A. M. Immunoglobulin classes of human serum antibodies in vaginal candidiasis. *Mycopathologia.* 1978, 63(3): 173-5.
- WARREN, N. G., HANSEN, K. C. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: MURRAY, P. R. *et al. Manual of Clinical Microbiology*, Washington: ASM-PRESS, 1999. 7th ed. p.1184-1199.
- WITKIN, S. S. Immunology of the vagina. *Clin Obst Gynecology.* 1996; 36(1):122-127.

WITKIN S. S., JEREMIAS J., LEDGER W.J. A localized vaginal allergic response in women with recurrent vaginitis. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81(2):412-6.

YI F. C., CHEONG N., SHEK P. C. L., WANG D. Y., CHUA K.Y., LEE B. W. Identification of shared and unique immunoglobulin E epitopes of the highly conserved tropomyosins in *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:1203-1210.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

RESPOSTA ANTICÓRPICA LOCAL E SISTÊMICA ESPECÍFICA A *C. albicans*
EM PACIENTES COM CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

CRISTIANE MARTINS CUNHA

Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi

Prof. Dra. Janethe Deolinda Pena

Prof. Dr. Calil Carvalho Neto

Homologado pela Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em ___/___/___

Prof. Dra. Ana Angélica Barbosa

RESUMO

Objetivo: *determinar níveis de IgA, IgG e subclasses (IgG1, IgG4) no soro e lavado vaginal de mulheres com ou sem candidíase vulvovaginal para avaliar o papel destes anticorpos na imunopatogênese desta doença.*

Métodos: *foram selecionadas 30 pacientes com sintomas clínicos de candidíase vulvovaginal (15 com cultura de secreção vaginal positiva para C. albicans, 11 com cultura negativa e 4 com cultura positiva para Candida não-albicans) e 12 mulheres controles assintomáticas (3 com cultura positiva e 9 com cultura negativa). Amostras de soro e lavado vaginal foram obtidas para a detecção de anticorpos anti-C. albicans por ELISA.*

Resultados: *Pacientes sintomáticas com cultura positiva apresentaram níveis de IgA específicas significativamente maiores no lavado vaginal e menores no soro do que aquelas com cultura negativa. Altos níveis de IgG total específica foram encontrados no soro e lavado vaginal em ambos os grupos, independente da presença do fungo. Níveis de IgG1 e IgG4 específicas foram significativamente maiores somente no lavado vaginal de pacientes sintomáticas e cultura positiva, com uma relação IgG1/IgG4 ligeiramente maior, indicando que a resposta anticórpica de IgG1 possa estar predominantemente envolvida na resolução da infecção fúngica.*

Conclusões: *Nossos resultados indicam resposta acentuada de IgA, IgG1 e IgG4 anti-C. albicans no lavado vaginal de pacientes sintomáticas com cultura positiva, sugerindo um importante papel destes anticorpos na resposta imune local estimulada pela presença do fungo.*