

# APLICAÇÃO DE ENSAIOS DE IMUNOADSORÇÃO ENZIMÁTICA PARA DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DE ESPOROTRICOSE FELINA: UMA BREVE REVISÃO

DÉBORA MATILDE DE ALMEIDA<sup>1</sup>; SÉRGIO JORGE<sup>2</sup>; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [deby.almeida@hotmail.com](mailto:deby.almeida@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [sergiojorgevet@hotmail.com](mailto:sergiojorgevet@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marciaonobre@gmail.com](mailto:marciaonobre@gmail.com)

## 1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada pelo fungo termodimórfico do complexo *Sporothrix spp.*, com potencial zoonótico e de distribuição global. A América do Sul é o continente com mais casos reportados da doença em animais, principalmente no Brasil e Argentina, sendo os felinos a espécie mais acometida (MORGADO, 2022).

Nos gatos, o agente etiológico primário é o *S. brasiliensis* e os principais sinais clínicos incluem lesões cutâneas disseminadas, caracterizadas por nódulos ulcerados e exsudativos, crostas e tecido necrótico. As lesões são encontradas na cabeça, orelhas, nariz, membros e região posterior, como na cauda, porém sinais extracutâneos também podem estar presentes, principalmente no trato respiratório (GREMIÃO et al., 2015).

Para estabelecer o diagnóstico definitivo, o isolamento do *Sporothrix spp.* por meio de cultura micológica, seguido de caracterização morfológica e conversão para a forma leveduriforme é a técnica padrão-ouro, no entanto nem sempre se tem laboratórios disponíveis e aptos a realizarem o teste e o resultado pode demorar até 30 dias para ser obtido, já que o fungo tem crescimento lento (GREMIÃO et al., 2020).

Os exames histopatológico e citopatológico também podem ser utilizados, mas como pré-diagnósticos ou acompanhamento da resolução terapêutica. O histopatológico é realizado por meio da coleta de lesões a partir de biópsia ou necropsia, todavia é recomendado que os felinos sejam sedados e anestesiados localmente para a coleta, o que pode tornar o processo dificultoso (MIRANDA et al., 2013). Já o exame citopatológico é mais utilizado na rotina, avaliando por meio de microscopia as crostas ou exsudatos coletados por *imprint* ou *swab* (PEREIRA et al., 2011). No entanto, é preciso ressaltar que gatos em tratamento podem ter uma diminuição da carga fúngica no momento da coleta, o que pode diminuir a sensibilidade do teste (MIRANDA et al., 2018).

A partir de desenvolvimento tecnológico, outros meios diagnósticos estão sendo explorados, como o ensaio de imunoadsorção enzimática indireto (ELISA) utilizando antígenos provenientes do extrato fúngico, proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos (TELLEZ-MARTÍNEZ, 2019). Desta forma, o objetivo deste trabalho é realizar uma breve revisão sobre a aplicabilidade do ELISA como método diagnóstico de esporotricose em felinos.

## 2. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada nas bases de dados MEDLINE/PubMed, Scopus, Cochrane Library e LILACS. A busca foi executada de acordo com o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) e termos livres. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave: Sporotrichosis, *Sporothrix*, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA, Serodiagnosis, Diagnosis. Os operadores booleanos “OR” e “AND” foram utilizados em conjunto das palavras-chave.

Esta revisão abrangeu estudos que avaliaram a utilização do teste de ELISA para diagnosticar *Sporothrix spp* em gatos, sendo incluídos manuscritos com os descritores no título e/ou resumo. Como critérios de inclusão foram aceitos estudos do tipo transversal, caso-controle, coorte, ensaios clínicos ou estudos de diagnóstico. Revisões narrativas, revisões sistemáticas e meta-análises não foram consideradas para a análise de resultados.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca de dados foram encontrados 27 manuscritos, porém apenas quatro se adequaram aos critérios estabelecidos nesta revisão. Os estudos foram publicados entre 2011 e 2022 e todos reportados no Brasil. A população total foi de 418 animais, sendo utilizado soros de 202 (48,32%) felinos não testados e sem sinais clínicos da esporotricose, 124 (29,66%) felinos diagnosticados, 52 (12,44%) felinos saudáveis e 40 (9,56%) portadores de outras doenças.

Em relação a seleção de animais, apenas Rodrigues et al. (2015) não informou dados sobre a epidemiologia. Dados como sexo, idade, status reprodutivo foram descritos em todos os demais. Apenas um estudo considerou se os felinos tiveram contato com solo ou plantas e o estudo de Bernardes-Engemann et al. (2022) foi o que mais avaliou informações, como acesso à rua, vacinação, contato com outros animais, garantia de água tratada, tipo de residência, frequência de limpeza da residência e tipo de alimentação dos felinos.

A distribuição e número de lesões foram informadas em três estudos, sendo classificadas conforme descrito por Miranda et al. (2013). Batista et al. (2020) também correlacionou as lesões com os sinais clínicos dos felinos acometidos, gerando um novo critério, dividido em apresentação clínica leve ou severa da doença. Apenas Bernardes-Engemann et al. (2022) não informou sobre as lesões.

Para diagnóstico da esporotricose, todos os estudos utilizaram a cultura micológica como diagnóstico definitivo, Fernandes et al. (2011) coletou as amostras por meio de swabs e/ou biópsia das lesões, já Batista et al. (2020) também realizou a identificação molecular do *Sporothrix* por meio de PCR.

Em relação a aplicação do teste de ELISA, três estudos (Batista et al. (2020), Fernandes et al. (2011) e Rodrigues et al. (2015)) utilizaram o antígeno SsCBF isolado da parede celular da *S. Schenckii*. Inicialmente, esse teste foi desenvolvido para o diagnóstico de esporotricose em humanos, reagindo com 100% dos soros (PENHA & BEZERRA, 2000); já em felinos, a sensibilidade e especificidade foram de 90% e 96%, respectivamente (FERNANDES et al., 2011).

No estudo de Batista et al. (2020), foram necessários 250pg/ml do antígeno para detectar os anticorpos de gatos acometidos por esporotricose, sendo o ponto de corte de 1:400 suficiente para diferenciar gatos saudáveis dos infectados. Em outro momento, após realizar o acompanhamento de gatos do pré-diagnóstico até o último de avaliação terapêutica, foi observado um maior número na titulação dos

anticorpos IgG no pré-diagnóstico, diferindo significativamente e indicando uma forte correlação com a evolução clínica dos pacientes, bem como o funcionamento satisfatório do teste.

Além de utilizar o antígeno citado anteriormente, Fernandes et al. (2011) também testou um preparado de antígeno bruto a partir de uma cepa de *S. schenckii* isolada de uma paciente humano com esporotricose na forma linfocutânea, resultando num teste sorológico com sensibilidade de 96% e especificidade de 98%. Esses valores podem ser explicados já que os antígenos brutos possuem mais epítopos a ser reconhecidos pelo anticorpo quando comparado ao antígeno purificado (BERNARDES-ENGEMANN et al., 2009).

Já no estudo de Bernardes-Engemann et al. (2022), o antígeno utilizado foi a partir da forma micelial (CFP 817) da *S. brasiliensis*, também sendo testado previamente em 90 pacientes humanos com diferentes formas clínicas da esporotricose. Porém ao utilizar o teste de ELISA com soros de felinos, tanto a sensibilidade como a especificidade foram maiores, alcançando 87% e 100% respectivamente (ALMEIDA-PAES et al., 2007).

Em outra abordagem, Rodrigues et al. (2015) utilizaram como preparado a proteína celular inteira de duas cepas de *S. schenckii* e duas cepas de *S. brasiliensis*, obtendo um teste sorológico com sensibilidade e especificidade de 100%. Também foi observado que independente das cepas utilizadas, os anticorpos dos gatos infectados reagiram sem diferenças significativas, suportando a hipótese do autor que a distância imunológica aumenta com a distância filogenética.

Visto a escassa quantidade de estudos sobre a temática e a necessidade de desenvolvimento de um teste rápido, sensível e específico para a esporotricose felina, está sendo desenvolvido um novo teste diagnóstico por meio de ELISA indireto utilizando um novo antígeno recombinante de *S. schenckii* em uma parceria com o Laboratório de Vacinologia e o Grupo de Ensino, Pesquisa e Extensão em Clínica de Pequenos Animais (CLINPET), ambos inseridos na Universidade Federal de Pelotas.

#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se a partir dos estudos revisados que o uso do ELISA indireto é uma alternativa viável para diagnóstico para esporotricose felina tem apontamentos positivos, conseguindo detectar os soros de pacientes acometidos frente aos saudáveis, apresentando grande sensibilidade e especificidade.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-PAES, R.; PIMENTA, M.A.; PIZZINI, C.V.; MONTEIRO, P.C.; PERALTA, J.M.; NOSANCHUK, J.D.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clinical Vaccine Immunology**, Washington, v.14, n.3, p.244-249, 2007.

BAPTISTA, V.S.; MOTHÉ, G.B.; SANTOS, G.M.P.; MELIVILU, C.S.I.; SANTOS, T.O.; VIRGINIO, E.D.; DE MACÊDO-SALES, P.A.; PINTO, M.R.; MACHADO, R.L.D.; ROCHA, E.M.S.; LOPES-BEZERRA, L.M.; BAPTISTA, A.R.S. Promising application of the SsCBF ELISA test to monitor the therapeutic response of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* from Brazilian epidemics. **Brazilian journal of microbiology**, São Paulo, v.52, n.1, p.145-153, 2020.

BERNARDES-ENGEMANN, A.R.; ALMEIDA, M.A.; BISON, I.; RABELLO, V.B.S. RAMOS, M.L.M.; PEREIRA, S.A.; ALMEIDA-PAES, R.; DE LIMA BRASIL, A.W.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Anti-Sporothrix Antibody Detection in Domestic Cats as an Indicator of a Possible New Occurrence Area for Sporotrichosis in North Brazil. **Mycopathologia**, The Hague, v.187, n.4, p.375-384, 2022.

BERNARDES-ENGEMANN, A.R.; LOUREIRO Y PENHA, C.V.; BENVENUTO, F.; BRAGA, J.U.; BARROS, M.L.; OROFINO-COSTA, R.; LOPES-BEZERRA, L.M.; Acomparative serological study of the SsCBF antigenic fraction isolated from three Sporothrix schenckii strains. **Medical Mycology**, Oxford, v.47, p.874–878, 2009.

FERNANDES, G.F.; LOPES-BEZERRA, L.M.; BERNARDES-ENGEMANN, A.R.; SCHUBACH, T.M.; DIAS, M.A.; PEREIRA, S.A. et al. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.147, n.3-4, p.445-449, 2011.

GREMIÃO, I.D.F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, [s. l.], 2020.

MIRANDA, L.H. et al. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v.36, n.4, p.425-432, 2013.

MIRANDA, L.H.M.; SILVA, J.N.; GREMIÃO, I.D.F. et al. Monitoring fungal burden and viability of Sporothrix spp. in skin lesions of cats for predicting antifungal treatment response. **Journal of Fungi**, v.4, n.92, p.1-11, 2018.

MORGADO, D.S.; CASTRO, R.; RIBEIRO-ALVES M.; CORRÊA-MOREIRA D.; CASTRO-ALVES, J.; PEREIRA, S.A.; MENEZES, R.C.; OLIVEIRA, M.M.E. Global distribution of animal sporotrichosis: A systematic review of Sporothrix sp. identified using molecular tools. **Current Research in Microbial Sciences**, v.3, 2022.

PENHA, C.V.; BEZERRA, L.M. Concanavalin A-binding cell wall antigens of Sporothrix schenckii: a serological study. **Medical Mycology**, Oxford, v.38, p.1–7, 2000.

PEREIRA, S.A. et al. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v.13, p.220-223, 2011.

RODRIGUES, A.M.; FERNANDES, G.F.; ARAUJO, L.M.; DELLA TERRA, P.P.; DOS SANTOS, P.O.; PEREIRA, S.A. et al. Proteomics-based characterization of the humoral immune response in sporotrichosis: toward discovery of potential diagnostic and vaccine antigens. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v.9, e0004016, 2015.

TÉLLEZ-MARTÍNEZ, D.; BATISTA-DUHARTE, A.; PORTUONDO, D.L.; CARLOS, I.Z. Prophylactic and therapeutic vaccines against sporotrichosis. Feasibility and prospects. **Microbes and infection**, Paris, v.21, n.10, p.432-440, 2019.