

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DAS RETROVIROSES NOS NÍVEIS DE ANTICORPOS IgG CONTRA A ESPOROTRICOSE EM FELINOS DOMÉSTICOS

ATHENA CRISTINA DE AZAMBUJA RODRIGUES¹; DÉBORA MATILDE DE ALMEIDA²; TATIÉLEN HERNANDEZ SEVERO²; CAROLINA OLIVEIRA SILVA²; SÉRGIO JORGE³; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE³.

¹Universidade Federal de Pelotas – athenacris@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – almeida.debora.m@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – tatihsvero@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolinaosilva96@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – sergiojorgevet@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença fúngica subcutânea causada por espécies patogênicas do gênero *Sporothrix spp.* que são distribuídas em todo mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (DE CAROLIS, E.; POSTERARO, B.; *et al.* 2022). A transmissão envolve a inoculação traumática do fungo no tecido subcutâneo do hospedeiro, através do contato com matéria orgânica contaminada, solo ou plantas espinhosas (RODRIGUES, A.M.; HAGEN, F.; *et al.*, 2022). Além disso, a infecção pode ocorrer através de interação animal-animal ou de forma zoonótica, principalmente associada a arranhões ou mordidas de gatos infectados (GREMIÃO, I.D.F.; MIRANDA, L.H.M. *et al.* 2017).

Quando o acometimento é sistêmico, sinais respiratórios, anorexia, febre, hipotermia, desidratação e outros sinais de descompensação são relatados (WELSH, 2003). Os gatos afetados podem ser estadiados de acordo com seu estado geral em que S1 refere-se ao estado geral bom, sem sinais extracutâneos; S2, estado geral regular, com sinais sistêmicos leves; S3, estado geral delicado, com sinais sistêmicos; S4, estado geral crítico, com sinais extracutâneos intensos (MIRANDA *et al.*, 2013).

Atualmente, além da esporotricose, sabe-se da alta prevalência de retroviroses na medicina felina. Estudos preliminares sugerem que a FeLV não é fator determinante para o desenvolvimento da esporotricose (DUNSTAN *et al.*, 1986), contudo, a imunossupressão induzida pelos retrovírus em felinos podem agravar a evolução do quadro clínico de animais infectados com *Sporothrix spp.* (DAVIS E TROY, 1996; SCHUBACH *et al.*, 2001c).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar os níveis de IgG total contra *Sporothrix spp.* no soro de felinos coinfectados por retroviroses e esporotricose.

2. METODOLOGIA

Foram selecionados dez soros dos felinos e divididos em cinco grupos de acordo com as infecções diagnosticadas (Tabela 1). Os animais positivos para retroviroses foram previamente diagnosticados por meio do teste comercial FIV Ac/FeLV Ag Test Kit (Alere®). Os soros dos felinos positivos para esporotricose foram diagnosticados por cultura fúngica e foram estadiados seguindo o protocolo de gravidade e número de lesões, sendo todos classificados como S1 (sem sinais clínicos extracutâneos).

Tabela 1 – Caracterização das amostras sorológicas em grupos de acordo com a doença infecciosa apresentada.

Grupo	<i>n</i>	Diagnóstico confirmado
1	2	FelV e esporotricose
2	2	FIV e esporotricose
3	2	Esporotricose
4	2	FelV
5	2	FIV

Para a realização do ELISA indireto, foi feita a sensibilização da placa com 100µl com uma proteína recombinante composta por dois antígenos fusionados de *S. brasiliensis* (Gp 70 e Enolase) e incubado overnight à 4°C. Posteriormente, foram realizadas três lavagens seriadas da placa com 200µl de PBS-T 1X por poço, foi realizada o bloqueio da placa utilizando 200µl de leite desnatado a 5% diluído em PBS-T e incubado a 37°C por 2h. Imediatamente, realizaram-se uma nova sessão de lavagens com PBS-T e adicionado 100µl de soro dos felinos com solução bloqueio a 2,5% nos poços da placa em triplicatas e incubado por 1 hora a 37°C. Na sequência, foi feita a administração de 100µl do anticorpo secundário anti-cat IgG conjugado com peroxidase (Sigma®), diluído em PBS-T, e incubado por 1 hora a 37°C e, posteriormente, realizado cinco vezes a lavagem. A reação foi revelada pela adição de uma solução contendo 0,004g o-fenilenodiamina dicloridrato em 10ml de tampão citrato fosfato (pH 4,0) e 15µl de H₂O₂ 30% por 15 minutos, à temperatura ambiente, em local escuro. A reação foi interrompida pela adição de 50µl de H₂SO₄ 3% por poço. Após, a absorbância foi avaliada por meio de um leitor de microplacas de ELISA (Agilent BioTek 800 TS Absorbance Reader, Santa Clara, CA, USA) a 490nm.

Estatisticamente, o ponto de corte foi definido como a média aritmética mais 2 desvios padrão dos soros dos gatos negativos para esporotricose.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sabe-se que as retrovíroses acabam afetando diretamente os felinos e são considerados fatores agravantes e debilitantes a saúde do animal, podendo contribuir para o desenvolvimento de outras doenças (CATTORI V *et al.*, 2005). Foi observado, no nosso estudo, que os animais portadores de retrovíroses possuem menores níveis de anticorpos da classe IgG contra a proteína recombinante de *S. brasiliensis*, como mostra o gráfico abaixo (Figura 1). Também identificamos que os animais positivos para FelV e esporotricose apresentaram níveis mais baixos de IgG do que os animais positivos para FIV e esporotricose. O FelV, é um *Gammaretrovírus* e está associado a infecções proliferativas, degenerativas e oncogênicas em células linfóides. Já o FIV, é um *Lentivírus*, afetando de forma progressiva o sistema imunológico dos felinos (ARJONA A, *et al.*, 2007). Com isso, acredita-se que os baixos níveis de anticorpos contra a esporotricose identificados no grupo 1 (FelV + esporotricose), deve-se as alterações que o vírus do FelV causa nas células linfóides, visto que a produção de anticorpos se dá pelos Linfócitos B maduros. Nota-se que o grupo de animais portadores de esporotricose e FIV, há discreta redução nos níveis de IgG, possivelmente em virtude do vírus afetar de forma progressiva o sistema imunológico.

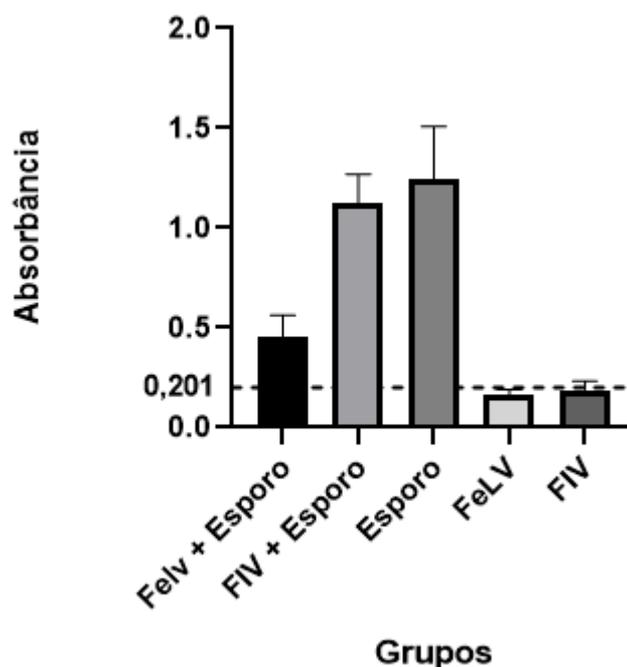


Figura 1: Resultado da ABS nos diferentes grupos. Nota-se que os valores de absorbância do Grupo 1 (FeLV e esporotricose) ficaram abaixo em comparação aos demais animais infectados com esporotricose. Os Grupo 2 (FIV e esporotricose) apresentaram menores níveis de IgG em relação ao grupo infectado com o grupo 3 (infectados somente com esporotricose).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que dentre os felinos avaliados no presente estudo, os animais acometidos pela esporotricose e portadores do vírus da leucemia felina (FeLV), apresentam menores níveis de IgG contra o antígeno recombinante de *S. brasiliensis*, destacando-se a importância do desenvolvimento de novos estudos para avaliar o impacto das coinfeções na medicina felina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARJONA A, BARQUERO N, DOMENECH A, TEJERIZO G, COLLADO VM, TOURAL C, MARTIN D, GOMEZ-LUCIA E. Avaliação de um novo nested PCR para o diagnóstico de rotina de Vírus da leucemia felina (FeLV) e Vírus da imunodeficiência felina (FIV). *J Felino Med Surg*. 2007;9:14---2.

CATTORI V, TANDON R, PEPIN A, LUTZ H, HOFMANN-LEHMANN R Detecção rápida do vírus da leucemia felina integração de provírus no DNA genômico felino . *Sondas de células Mol* . 2005;20:172---81. 6.

DAVIES, C.; TROY, G. C. Deep mycotic infections in cats. *J Am Anim Hosp Assoc* ., v. 32, p. 380-91, 1996.

DE CAROLIS, E.; POSTERARO, B.; SANGUINETTI, M. Old and New Insights into *Sporothrix Schenckii* Complex Biology and Identification. **Pathogens** **2022**, 11, 297.

DUNSTAN, R. W.; LANGHAM, R. F.; REIMANN, K. A.; WAKENELL, P. S. Feline sporotrichosis: A report of five cases with transmission to humans. **JAM Acad Dermatol.**, v. 15, p. 37-45, 1986.

ELSH, R. D. Sporotrichosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 8, p. 1123–1126, 15 out. 2003.

GREMIÃO, I.D.F.; MIRANDA, L.H.M.; REIS, E.G.; RODRIGUES, A.M.; PEREIRA, S.A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog.** **2017**, 13, e1006077.

RODRIGUES, A.M.; HAGEN, F.; de CAMARGO, Z.P. A Spotlight on Sporothrix and Sporotrichosis. **Mycopathologia** **2022**, 187, 407–411.

MIRANDA, L. H. M. et al. Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 4, p. 425–432, 1 jul. 2013.