

ESTADIAMENTO LABORATORIAL DA ESPOROTRICOSE FELINA ATRAVÉS DO ELISA INDIRETO: UM ESTUDO PRELIMINAR

TAILA LILGE SCHEER¹; DÉBORA MATILDE DE ALMEIDA²; SIMONE ZARICHTA RAKULOSKI³; TATIÉLEN HERNANDEZ SEVERO⁴; VITÓRIA XAVIER CABRAL⁵; SÉRGIO JORGE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet - tailalilge@gmail.com ¹

²Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet – almeida.debora.m@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, IB, Laboratório ClinPet - simonezrakuloski@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet- tatihtsevero@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet- vitoriaxc@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas, FaVet, Laboratório ClinPet - sergiojorgevet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose de distribuição mundial, ocorrendo principalmente em regiões de clima tropical e subtropical. É causada por fungos do gênero *Sporothrix* spp., que abrange mais de 50 espécies distribuídas nos diferentes continentes. Na América do Sul, mais especificamente no Sudeste, a *S. brasiliensis* é o principal agente etiológico em animais domésticos (RABELLO, et al. 2021). Esta espécie se destaca por seu potencial zoonótico, sendo uma micose de grande importância para a saúde única (GREMIÃO, et al., 2020). No Rio Grande do Sul existem relatos da doença desde a década de 1990, sendo que na região de Pelotas e Rio Grande a incidência de casos tem aumentado ao passar dos anos (ASSIS, et al. 2022).

O diagnóstico definitivo é realizado através de cultivo micológico, seguido do isolamento do fungo e avaliação do dimorfismo térmico, e possui sensibilidade de 95,2%, e especificidade de 100% (MACÊDO et al. 2018). De acordo com Fernandes et al. (2010), o Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA) é utilizado como ferramenta diagnóstica para esporotricose, tanto para animais como para humanos, apresentando sensibilidade de até 96 % e especificidade de até 98 %. Além disso, estudos feitos com ELISA apontam seu uso para auxiliar na compreensão da resposta imunológica dos felinos frente a doença, onde o desafio é saber qual o momento adequado de suspender o tratamento, mantê-lo ou ajustar dose de fármacos (BAPTISTA, et al. 2020).

Diante do preocupante cenário epidemiológico da esporotricose, há a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre a resposta imune humoral em felinos. Nesse contexto, o ensaio de ELISA foi utilizado para correlacionar os níveis de IgG com a gravidade clínica da doença, que pode ser classificada pelo número de lesões (L1 a L3) e pela condição geral do animal (S1 a S4) (BAPTISTA, et al. 2020; MIRANDA et al. 2013). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar por meio do ELISA indireto a resposta imune humoral individual de felinos com esporotricose em diferentes estadiamentos clínicos da doença.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 25 amostras sorológicas de felinos, selecionadas a partir de busca ativa no banco de soros do Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal de Pelotas (LPCVet-UFPEL). As sobras clínicas de soro foram cedidas gentilmente após as devidas análises bioquímicas. Destas amostras, três foram de felinos hígidos e 22 de felinos com diagnóstico definitivo de esporotricose. A partir da análise detalhada da ficha clínica, as amostras foram divididas de acordo com a apresentação clínica e estado geral do paciente. Em relação a distribuição de lesões as amostras de pacientes foram classificadas como L1- lesões em apenas

um local; L2- lesões em dois locais não contíguos; L3- lesões em três ou mais locais não contíguos; conforme descrito por Schubach et al. (2004) e Miranda et al. (2013). O estado geral foi classificado em S1- estado geral bom do paciente, sem sinais sistêmicos; S2- estado geral regular, com sinais sistêmicos leves; S3- estado geral delicado, com sinais sistêmicos moderados; S4- estado geral crítico, com sinais sistêmicos graves conforme descrito por Schubach et al. (2004) e Miranda et al. (2013).

O antígeno utilizado no ELISA foi uma proteína recombinante, obtida a partir de epítopos imunodominantes das proteínas Enolase e Gp70 de *S. brasiliensis* (MAIOCCHI et al., 2023). As microplacas de 96 poços foram sensibilizadas com o antígeno e, após o bloqueio, incubadas com soros de felinos hígidos e com diagnóstico de esporotricose. Em seguida, aplicou-se o anticorpo IgG anti-felino conjugado à peroxidase. A reação foi revelada com substrato cromogênico adequado e interrompida por solução ácida, sendo a absorbância medida em 490 nm em leitor de microplacas. As leituras foram feitas em duplicata, considerando-se a média aritmética, e os dados processados no software GraphPad Prism 8.0.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram analisados individualmente e agrupados de acordo com o número de lesões e estado geral do paciente. A média de absorbância das amostras provenientes de pacientes diagnosticados com esporotricose e sem enfermidades concomitantes foi de 0,267. Animais que apresentaram valores de absorbância muito baixos tiveram em comum a presença de comorbidades ou condições clínicas específicas. Dentre eles, foram identificados casos positivos para FIV (Vírus da Imunodeficiência Felina) e FeLV (Vírus da Leucemia Felina), além de um felino em remissão após longo período de tratamento e um caso que evoluiu para óbito. Foram analisadas três amostras negativas, que apresentaram média de 0,068 de absorbância (Figura 1).

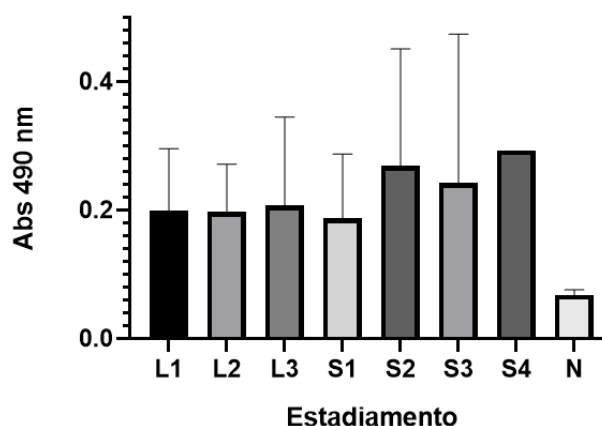


Figura 1: Absorbâncias das amostras de felinos diagnosticados com esporotricose, organizadas conforme a apresentação clínica e o estado geral (Schubach et al., 2004; Miranda et al., 2013).

Três amostras pertenciam a gatos diagnosticados com FIV, os quais apresentaram uma média de absorbância de 0,144. Dois desses animais estavam classificados no estadiamento L3 S1, enquanto o terceiro encontrava-se em L1 S1. Outras duas amostras eram de felinos positivos para FeLV, ambos com estadiamento L3 S1, apresentando uma média de absorbância ainda mais baixa, de 0,079, muito próxima da média do controle negativo que foi de 0,068. O gato em remissão, após oito meses de tratamento, encontrava-se no estadiamento L1 S1, com valor de absorbância de 0,071. O animal que evoluiu para óbito estava

classificado como L3 S3 e apresentou uma absorbância de 0,078, indicando uma baixa resposta imune detectável, possivelmente associada à gravidade do quadro clínico.

Esses achados reforçam que o teste de ELISA pode atuar como ferramenta complementar na avaliação da gravidade clínica e da disseminação da esporotricose em felinos. Foi observado que animais com quadros clínicos mais graves frequentemente apresentavam coinfeções por FIV ou FeLV, doenças que comprometem diretamente o sistema imunológico dos gatos, podendo contribuir para a piora do estado geral e aumentar o risco de desfechos desfavoráveis, como o óbito (HARTMANN, 2012).

Além disso, destaca-se a importância do acompanhamento contínuo dos pacientes em tratamento. O monitoramento da resposta sorológica ao longo do tempo pode fornecer ao médico veterinário subsídios para um prognóstico mais preciso e auxiliar na tomada de decisão quanto à duração ideal do tratamento, otimizando a recuperação do paciente (BAPTISTA, et al. 2020).

4. CONCLUSÕES

Diante disso, os resultados do teste de ELISA indicaram maior resposta sorológica em felinos sem doenças concomitantes, com mais lesões e pior estado clínico, sugerindo seu potencial como ferramenta auxiliar no monitoramento da evolução da esporotricose. Esses dados reforçam a importância do acompanhamento clínico e sorológico individualizado para um melhor manejo e prognóstico dos pacientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARUNA, G. L.; RAMALINGAPPA, B. Development of indirect ELISA and its evaluation in comparison with KOH hydrolysis and fungal culture for the immuno diagnosis of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* infection in humans. *Acta Tropica*, v. 235, p. 106590, 2022.

ASSIS G. S. et al. Esporotricose felina e saúde pública. *Veterinária e Zootecnia*, Jataí, v. 29, p. 1-10, 2022.

BAPTISTA V. S. Promising application of the SsCBF ELISA test to monitor the therapeutic response of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* from Brazilian epidemics. *Braz J Microbiol.* 2020 Mar;52(1):145-153.

FERNANDES, Geisa F. et al. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. *Veterinary Microbiology*, v. 147, n. 3, p. 445–449, 16 jul. 2010.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Brazilian Journal of Microbiology*, Curitiba, v. 52, n. 1, p. 107–124, mar. 2020.

HARTMANN, Katrin. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*, v. 4, n. 11, p. 2684–2710, 31 out. 2012.

MACÊDO-SALES P.A. et al. Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, *Revista Pan- Amaz Saúde* 2018; 9(2):13-19.

MAIOCCHI, L. V. et al. Produção de uma quimera recombinante como antígeno

vacinal para esporotricose felina. In: **11ª Semana Integrada de Inovação, Ensino, Pesquisa e Extensão (SIIPE), 2023**, Pelotas. *Anais...* Universidade Federal de Pelotas, 2023. 4 p.

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

RABELLO V. B.S. et al. A Carga Histórica da Esporotricose no Brasil: uma Revisão Sistemática dos Casos Notificados de 1907 a 2020. **Braz J Microbiol.** Março de 2021.

SCHUBACH T. M. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). **J Am Vet Med Assoc.** 2004 May 15;224(10):1623-9.