

ESPOROTRICOSE CUTÂNEA EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA EM DIFERENTES TRATAMENTOS

MENDES, Josiara Furtado¹; MARTINS, Anelise Afonso²; MATOS, Caroline Bohnen³; SANTIN, Rosema⁴; MEIRELES, Mário Carlos Araújo⁵

¹Graduanda em Ciências Biológicas – UFPel, Bolsista PIBIC/CNPq josiara.mds@hotmail.com

²Médica Veterinária – UNIPAMPA

³Médica Veterinária Autônoma

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFRGS

⁵Profº Associado – Departamento Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária – UFPel

1 INTRODUÇÃO

O aumento da quimioterapia, a disponibilidade de novos antibióticos e os transplantes de órgãos constituem avanços que modificaram a evolução natural de doenças degenerativas e infecciosas. Entretanto, tais recursos e procedimentos geram dano ao sistema imunológico do hospedeiro e, conseqüentemente, predispondo às doenças oportunistas como as causadas por fungos (BARROS et al., 2001). A esporotricose, micose subcutânea causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii* tem se destacado pelo número crescente de casos envolvendo várias espécies de animais e o homem, que desenvolvem formas mais graves da enfermidade (BARROS et al., 2001; MEINERZ et al., 2007; XAVIER et al., 2004).

Nas últimas décadas são crescentes os casos zoonóticos envolvendo felinos domésticos, especialmente machos não castrados. Os relatos descrevem a transmissão da doença por arranhadura, mordedura, contaminação por solução de continuidade cutânea preexistente, ou contato direto da pele levemente irritada com lesões ulceradas e exsudativas dos animais enfermos (MARQUES et al., 1993; XAVIER et al., 2004).

Em vista da dificuldade terapêutica relacionada à toxicidade e tempo prolongado de terapia antifúngica nos casos de esporotricose felina, tem se buscado novas alternativas para o tratamento da enfermidade (AZEVEDO et al., 2005). Dentre elas se destaca o uso de imunomoduladores que apresentam grande relevância no combate aos microrganismos patogênicos através da estimulação da resposta imune em especial, a (1-3) glucana que apresenta ampla capacidade moduladora tanto da resposta celular, através da estimulação de células fagocitárias, quanto da humoral (LEE et al., 2002).

Neste contexto, o estudo teve como objetivo avaliar as alterações anatomopatológicas de ratos com esporotricose cutânea experimental tratados com itraconazol e (1-3) glucana.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Para a realização do estudo foram utilizados 100 ratos albinos (*Rattus norvegicus*), linhagem Wistar, cepa UFPel, machos, com oito semanas de idade e peso variando de 320 a 380 gramas. Os animais foram alojados por um período de oito semanas na sala de experimentação do Biotério Central da Universal Federal de Pelotas (UFPel) com controle de temperatura, umidade, ventilação, ciclo de claro e escuro de 12h, recebendo dieta de acordo com o peso corporal e água *ad libitum*.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da UFPel.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais com 25 animais cada, sendo: Grupo controle (G1), Grupo Itraconazol (G2), Grupo Itraconazol associado a (1-3) glucana (G3) e Grupo (1-3) glucana (G4). Para desenvolvimento da esporotricose experimental foi preparado o inóculo fúngico a partir de colônias filamentosas cultivadas em meio ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e cicloheximida a 25 C por um período de dez dias. O isolado de *S. schenckii* pigmentado e termotolerante foi proveniente de um felino com esporotricose disseminada. A inoculação foi realizada pela via subcutânea no coxim plantar direito dos animais.

O grupos foram tratados diariamente durante cinco semanas, sendo três animais eutanasiados semanalmente conforme resolução do CFMV nº 714/2002 e necropsiados, sendo a primeira realizada após uma semana de tratamento. Na necropsia foi avaliada presença de lesões anatomopatológicas em outras partes externas do corpo, além do coxim, bem como em órgãos internos. Foi realizada também a coleta de material do coxim plantar direito de cada animal, órgãos internos como fígado, baço, testículos e linfonodos poplíteos para retroisolamento do agente e quantificação de unidade formadora de colônia (UFC) (em duplicata) em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e cicloheximida, incubado a 25°C durante seis dias. Outros órgãos no qual era observada a presença de lesões características da micose também foram semeados.

O mesmo procedimento anteriormente descrito foi realizado no restante dos animais no final do período experimental.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Doze dias após a inoculação experimental a avaliação clínica revelou que todos os animais apresentavam lesões características da esporotricose com a presença de nódulos, úlceras e exsudato no coxim plantar direito. No decorrer do estudo as avaliações clínicas semanais demonstraram que, na segunda semana de tratamento, todos os animais do G1, 90% do G2, 80% do G3 e 100% do G4 apresentavam o ponto de inoculação ulcerado. Nas semanas três e quatro 100% dos animais apresentavam úlceras com exsudato e presença de crostas no ponto de inoculação. A partir da quinta semana os grupos experimentais começaram a se diferenciar, sendo visualizadas úlceras com exsudato e crostas em 50% do grupo G3 ($p < 0,05$), enquanto nos grupos G1, G2 e G4 foi observada a presença de úlceras ativas em 100%, 90% e 80% dos animais, respectivamente. O restante dos animais, 10% do G2, 50% do G3 e 20% do G4 apresentavam processo cicatricial com início de regressão das lesões no ponto de inoculação.

As principais alterações anatomopatológicas observadas foram aumento do linfonodo poplíteo e lesões puntiformes esbranquiçadas localizadas e/ou disseminadas no baço, fígado e pulmão. A análise estatística evidenciou que os animais pertencentes aos grupos tratados (G2, G3 e G4) diferiram $p < (0,05)$ em relação ao grupo controle (G1), demonstrando menor frequência ou ausência de alterações anatomopatológicas nos grupos tratados, no entanto não houve diferença significativa entre estes três grupos (Tab. 1).

Tabela 1- Frequência de animais com alterações anatomopatológicas observadas durante as necropsias realizadas no decorrer do período experimental conforme cada grupo de tratamento (n=25)

Órgãos	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	G4 (%)
Baço	24	4	4	8
Fígado	40	12	8	16
Testículos	-	-	-	-
Linfonodo poplíteo	92	68	64	72
Pulmão	04	-	-	-

G1- grupo controle; G2- grupo Itraconazol; G3- grupo Itraconazol + (1-3) glucana; G4- grupo(1-3) glucana.

As alterações anatomopatológicas, assim como o retroisolamento do *S. schenckii* de órgãos internos e a contagem de UFCs do ponto de inoculação confirmaram os achados clínicos, onde os grupos tratados foram significativamente diferentes do grupo controle, com menor número de animais apresentando lesões macroscópicas, menor frequência de retroisolamento e menor quantificação das UFCs (Tab. 2). O retroisolamento do *S. schenckii* de órgãos internos já foi evidenciado em estudos *in vivo* demonstrando a ocorrência da disseminação do agente uma semana após a inoculação subcutânea (ANTUNES, 2004; MADRID, 2007).

Tabela 2- Quantificação das Unidades Formadoras de Colônia de *S. schenckii* referentes ao ponto de inoculação dos animais conforme os grupos experimentais

SEMANA	GRUPOS			
	CONT (G1) UFC/mL	ITRA (G2) UFC/mL	ITRA + GLU (G3) UFC/mL	GLU (G4) UFC/mL
1*	5.153	4.647	4.219	4.417
2	4.487	4.107	3.957	4.009
3	3.971	2.916	2.030	2.447
4	3.906	1.420	0.625	1.755
6	3.906	1.712	0.624	1.756

*Primeira contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs), realizada uma semana após início de tratamento; G1- grupo controle; G2- grupo Itraconazol; G3- grupo Itraconazol associado (1,3) glucana; G4 grupo (1,3) glucana.

No entanto, estudos prévios demonstraram que tanto o tratamento antifúngico quanto a -glucana diminuem a disseminação fúngica e o retroisolamento, bem como reduzem o número de células viáveis no ponto de inoculação, resultando em uma menor quantificação das UFCs (LIANG et al., 1998; ANTUNES, 2004). Em modelo experimental de sepse, a glucana demonstrou a redução da translocação de bactérias marcadas durante a isquemia/reperfusão intestinal e um aumento no número de leucócitos locais (LIANG et al., 1998; ARAÚJO-FILHO et al., 2006).

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que os tratamentos utilizados foram eficazes na remissão da esporotricose cutânea experimental, no entanto a associação da (1-3) glucana ao antifúngico induziu uma regressão mais rápida da enfermidade, demonstrando menos lesões macroscópicas e menor quantificação de unidade formadora de colônia.

5 REFERÊNCIAS

ANTUNES, T.A. **Efeito do Itraconazol e da Terbinafina no tratamento da esporotricose cutânea experimental**. 2004. 60f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ARAÚJO-FILHO, I.; RÊGO, A.C.M.; PINHEIRO, L.A.M.; AZEVEDO, I.M.;

MEDEIROS, V.B.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A.C. Prevention of bacterial translocation using β -(1-3)-D-glucan in small bowel ischemia and reperfusion in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, supl. 4, p.17-22, 2006.

AZEVEDO, C.M.P.S.; LEDA, Y.A.; OLIVEIRA, T.K.M.; BARBOSA, A.; Branco, D.A.C. **Efeito da glucana em um caso de cromoblastomicose refratário a antifúngico**. Anais Brasileiro de Dermatologia, v.80, supl.2, p.229-230, 2005.

BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, T.M.P.; GALHARDO, M.C.G.; REIS, R.S.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M.; LAZERA, M.S.; CUZZI-MAYA, T.; BLANCO, T.C.M.; MARZOCHI, K.B.F.; WANKE, B.; VALLE, A.C.F. Sporotrichosis: na emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, n.6, p.777-779, 2001.

LEE, D.; IN-HYE, J.R.; CHANG, H.; KIM, C. High-level TNF- Secretion and Macrophage Activity with Soluble β -Glucans from *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 66, n. @, p. 233-238, 2002.

LIANG, J.; MELICAN, D.; CAFRO, L.; PALACE, G.; FISETTE, L.; ARMSTRONG, R.; PATCHEN, M.L. Enhanced clearance of a multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in rats treated with PGG-glucan is associated with increased leukocyte counts and increased neutrophil oxidative burst activity. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 20, p. 595-614, 1998.

MADRID, I.M.; XAVIER, M.O.; MATTEI, A.S.; CARAPETO, L.P.; ANTUNES, T.A.; SANTOS Jr, R.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A. Esporotricose óssea e cutânea em canino. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 441-443, 2007.

MARQUES, S.A.; FRANCO, S.R.V.S.; CAMARGO, R.M.P.; DIAS, L.D.F.; HADDAD J.R, V.; FABRIS, V.E. Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): transmissão humana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.35, n.4, p.327-330, 1993.

MEINERZ, A.R.; NASCENTE, P.S.; SCHUCH, L.F.; FARIA, R.O.; SANTIN, R.; CLEFF, M.B.; MADRID, I.M.; MARTINS, A.M.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO, J.R.B. Esporotricose felina – relato de casos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 575-57, 2007.

SOUZA, L.L.; NASCENTE, P.S.; NOBRE, M.O.; MEINERZ, A.R.M.; MEIRELES, M.C.A. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.372-374, 2006.

XAVIER, M.O.; NOBRE, M.O.; SAMPAIO JR, D.P.; ANTUNES, T.A.; NASCENTE, P.S.; SÓRIA, F.B.A.; MEIRELES, M.C.A. Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1961-1963, 2004.