

## ESTUDO COMPARATIVO DO TRATAMENTO COM IMUNOMODULADOR VERSUS ANTIFÚNGICO NA ESPOROTRICOSE EXPERIMENTAL

**MENDES, Josiara Furtado<sup>1</sup>; MADRID, Isabel Martins<sup>2</sup>; GOMES, Angelita<sup>2</sup>;  
MARTINS, Anelise Afonso<sup>3</sup>; MEIRELES, Mário Carlos Araújo<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas – UFPel, Bolsista PIBIC/CNPq [josiara.mds@hotmail.com](mailto:josiara.mds@hotmail.com)

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPel

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFRGS

<sup>4</sup> Profº Associado – Departamento Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária – UFPel

### 1 INTRODUÇÃO

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 principalmente os imunocomprometidos que desenvolvem formas mais graves da enfermidade (MEINERZ Et al., 2008, MADRID Et al. 2010).

Na década de noventa o itraconazol, atual antifúngico de eleição para as formas cutânea e linfocutânea da esporotricose, emergiu como uma opção terapêutica eficaz com menos efeitos colaterais em relação aos antifúngicos tradicionalmente utilizados para a micose (BUSTAMANTE; CAMPOS, 2004; NOBRE Et al., 2002). No entanto, 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. Dentre elas destaca-se o uso de imunomoduladores que apresentam grande relevância no combate aos microrganismos patogênicos através da estimulação da resposta imune. Em especial, a  $\beta$  (1-3) glucana que apresenta ampla capacidade moduladora tanto da resposta celular, através da estimulação de células fagocitárias, quanto da humoral. As principais atividades imunofarmacológicas da  $\beta$  (1-3) glucana estão relacionadas com efeitos antitumorais, aumento na proteção contra infecções virótica, bacterianas, parasitaria e fúngica (AZEVEDO Et al., 2005; CRISPIM; MEDEIROS; SALES, 2004; MEIRA Et al., 1996). Neste contexto, o estudo teve como objetivo comparar o imunomodulador  $\beta$  (1-3) glucana com o itraconazol no tratamento da esporotricose cutânea experimental em modelo murino.

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Para a realização do estudo foram utilizados 75 ratos albinos, linhagem Wistar, machos, com oito semanas de idade, os quais foram alojados na sala de experimentação do Biotério Central da Universal Federal de Pelotas (UFPel) recebendo dieta de acordo com o peso corporal e água *ad libitum*. Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) desta instituição. Os animais foram divididos em grupos de 25 animais cada, sendo grupo controle (G1) tratado com água destilada estéril, grupo itraconazol (G2) tratado com 10 mg/Kg de itraconazol e grupo glucana (G3) tratado com 0,5 mg de  $\beta$  (1-3) glucana.

Foi utilizado isolado de *S. schenckii* pigmentado e termotolerante, proveniente de um felino com esporotricose disseminada. O inóculo fúngico foi

preparado a partir de colônias filamentosas cultivadas em meio ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e cicloheximida a 25°C por um período de dez dias. Fragmentos da colônia foram removidos do meio de cultura com auxílio de lâmina de bisturi estéril e transferidos para um tubo contendo solução salina tamponada (PBS), filtradas em camada dupla de gaze estéril, centrifugadas, lavadas duas vezes com PBS e padronizadas em  $2 \times 10^3$  células de *S. schenckii*/ml. Os animais foram inoculados pela via subcutânea no coxim plantar direito com 0,1 ml da suspensão do inóculo fúngico. O tratamento foi iniciado doze dias após a inoculação, quando estes apresentavam lesões características de esporotricose cutânea, como nódulos e úlceras.

Dez animais de cada grupo foram escolhidos aleatoriamente para serem avaliados semanalmente quanto à evolução da esporotricose cutânea durante seis semanas de tratamento. Em todos os animais foi avaliado o local de inoculação, lesões em outras áreas corpóreas e o estado geral de cada animal. A evolução clínica da esporotricose foi classificada conforme a formação de nódulos, presença de úlceras, exsudato e crostas assim como, pela regressão e cicatrização das lesões no ponto de inoculação. A avaliação estatística foi realizada utilizando o programa Statistix 8.0 através da distribuição de frequências semanais dos sinais clínicos e grau de evolução clínica. Para estimar as diferenças entre os tratamentos utilizou-se a análise variância e comparação entre as médias pelo método de Kruskal-Wallis e teste qui-quadrado, com significância mínima de 95%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A esporotricose é geralmente adquirida pela inoculação acidental da forma filamentosa do *S. schenckii* encontrada no ambiente. As lesões da enfermidade são decorrentes da transformação do microrganismo para forma leveduriforme, que ocorre em aproximadamente 13 dias, e posterior multiplicação no tecido do hospedeiro (CORREA Et al., 1991). No presente estudo, 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 grupo controle (G1), 90% do grupo Itraconazol (G2) e 100% do grupo  $\beta$  glucana (G3) apresentavam o ponto de inoculação ulcerado. Nas terceira e quarta semana 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 presenças de úlceras ativas em 100%, 90% e 80% dos animais dos grupos G1, G2 e G3, respectivamente. O restante dos animais, 10% do G2 e 20% do G3 apresentavam processo cicatricial com início de regressão das lesões no ponto de inoculação (Figura 1).

Foi observada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os dois grupos tratados em relação ao controle na sexta semana do experimento, onde todos os animais pertencentes ao grupo controle apresentavam lesões ativas e, no grupo G2 e G3 40% dos animais em processo de cicatrização e 10% cicatrizado. Na sétima semana experimental 50% dos animais do G2 permaneciam com lesões ativas, 40% estavam em cicatrização e 10% cicatrizados. No grupo G3 60% permaneciam com úlceras, 30% em regressão e 10% cicatrizados. Enquanto no grupo G1 somente 20% dos animais apresentavam processo de cicatrização e 80% permaneciam com

lesões ativas no ponto de inoculação. Também foi possível observar que a partir da segunda semana de avaliação clínica, os animais apresentaram lesões em outras áreas corpóreas. As regiões mais frequentemente afetadas foram o dorso e articulação tibiotársica correspondente ao membro inoculado, membro anterior direito e cauda. As lesões eram caracterizadas pela presença de eritema, edema, nódulos e úlceras com presença de exsudato. No grupo G1, na quinta e sexta semanas de experimento foram observadas múltiplas lesões em todos os animais permanecendo 80% dos animais com lesões até o término do período experimental. Quanto ao grupo G2, na quarta semana 80% dos animais desenvolveram lesões nodulares sendo que a partir da quinta semana houve regressão dessas lesões, chegando ao final do tratamento com 20% dos animais com permanência de lesão. Com relação ao G3, o maior número de animais com lesões múltiplas ocorreu na quarta semana, correspondendo a 70% dos animais. No final do tratamento 30% dos animais mantiveram múltiplas lesões.

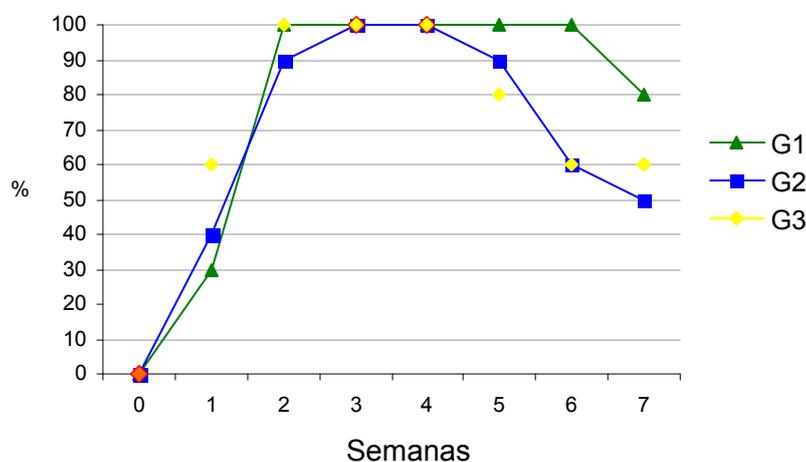


Figura 1 - Evolução clínica da esporotricose cutânea em relação à permanência de úlceras e exsudato no ponto de inoculação. (G1)- grupos controle; (G2)- grupo itraconazol; (G3)- grupo  $\beta$  (1-3) glucana.

A análise estatística demonstrou que os animais pertencentes aos grupos tratados (G2 e G3) apresentaram diferenças ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle, sendo que esses grupos tiveram menor frequência de animais com múltiplas lesões no final do estudo. Ao final do experimento observou-se que o grupo tratado com a glucana foi mais eficaz do que o grupo controle e, semelhante ao grupo itraconazol não tendo diferença significativa deste, sendo que 30% do grupo G3 e 20% do G2 permaneciam com lesões ativas no ponto da inoculação, enquanto 80% dos animais do grupo G1 ainda apresentavam essas lesões.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que o tratamento com o antifúngico de eleição, itraconazol assim como com a glucana, foram eficazes na remissão da esporotricose cutânea experimental. No entanto, faz-se necessário maior estudo por se tratar de um imunomodulador, visando adequar dose e intervalo de tratamento para que se tenha uma alternativa eficaz no tratamento desta enfermidade.

#### AGRADECIMENTOS

Aos órgãos financiadores: CNPq, CAPES e FAPERGS

## 5 REFERÊNCIAS

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.

BUSTAMANTE B.; CAMPOS P. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. **Expert Reviews Anti-infectious Therapy**, v.2, p.85-94, 2004.

CORREA, B.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R.; PALAZZO, S. Morphogenesis of *Sporothrix schenckii* “in vivo” and “in vitro” through the method of viability by fluorescence. **Applied Fluorescence Technology**, v.3, p.1-8, 1991.

CRISPIM, J.C.O.; MEDEIROS, A.C.; SALES, V.S.F. Proteção pela glucana em modelo experimental de sepse. **Acta Cirúrgica Brasileira** [serial online] 2004, 19(3). Disponível em URL <<http://www.scielo.br/acb>>

MADRID, I.M.; MATTEI, A.S.; MARTINS, A.A.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. **Zoonoses and Public Health**, v.57, p.151-154, 2010.

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, p. 575-57, 2007.

MEIRA, D.A.; PEREIRA, P.C.M.; MARCONDES-MACHADO, J.; MENDES, R.P.; BARRAVIERA, B.; PELLEGRINO, J.R.J.; REZKALLAH-IWASSO, M.T.; PERAÇOLI, M.T.S.; CASTILHO, L.M.; THOMZAINI, I.; SILVA, C.L.; FOSS, N.T.; CURRI, P.R. The use of glucan as immunostimulant in the treatment of paracoccidioidomycosis. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, p. 496-503, 1996.

NOBRE, M.O.; NASCENTE, P.S.; MEIRELES, M.C.; FERREIRO, L. Drogas Antifúngicas para Pequenos e Grandes Animais. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.175-184, 2002.