

ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO POR *Paracoccidioides brasiliensis* EM CANINOS DOMÉSTICOS EM DOIS BAIRROS DA CIDADE DE PELOTAS-RS

MÁRCIA KUTSCHER RIPOLL¹; ALESSANDRA JACOMELLI TELES²; ÂNGELA LEITZKE CABANA³; RENATA OSÓRIO FARIA⁴; MELISSA ORZECOWSKI XAVIER⁵; MÁRIO CARLOS ARAÚJO MEIRELES⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – marciaripoll@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – ale.teles@gmail.com

⁵Universidade Federal de Rio Grande (FURG) – melissaxavier@ig.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – meireles@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A Paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose causada por fungos do gênero *Paracoccidioides*, sendo o de maior relevância o *P. brasiliensis*. É uma micose sistêmica, descrita primeiramente por Adolpho Lutz em 1908. Ocorre em regiões de climas tropicais e subtropicais, por isso sua grande importância na América Latina. Em número de casos documentados, o Brasil é o principal representante, possuindo maiores prevalência em regiões sudeste, sul e centro-oeste (MARQUES, 2008; PANIAGO *et al.*, 2003; VERLI *et al.*, 2005).

Por ser tratar de um fungo dimórfico, apresenta as formas, filamentosa em temperatura de 37°C e leveduriforme á 25°C (BRUMMER *et al.*, 1993). É provável que a infecção ocorra pela inalação de propágulos fúngicos na sua forma filamentosa, atingindo os pulmões (VERLI *et al.*, 2005). Pode-se observar lesões granulomatosas em pulmões, linfonodos, fígado, pele, baço e mucosa em decorrência da infecção, podendo essa ser disseminada via linfática ou hematogênica (RESTREPO *et al.*, 2008).

Devido ao difícil isolamento a partir do ambiente, torna-se difícil o conhecimento a respeito do seu habitat, apesar de estudos sugerirem que o fungo seja saprofítico. (BAGALI & BOSCO, 2008).

A PCM pode demonstrar amplo período de latência dentro do organismo e o hábito dos cães de cavar e farejar o solo, possivelmente seja uma das razões de, em diferentes regiões, ter-se uma significativa positividade para essa enfermidade (FONTANA *et al.*, 2010; SHIKANAI-YASSUDA *et al.*, 2006).

A doença na espécie canina tem bastante relevância devido a convivência dessa espécie com humanos. Estes por não terem hábitos de migração, podem ser importantes marcadores epidemiológicos (FARIAS *et al.*, 2011; RICCI *et al.*, 2004). No sul do Rio Grande do Sul a presença do fungo pode ser confirmada através da infecção em equinos e animais silvestres (ALBANO *et al.*, 2014).

O estudo teve o intuito de pesquisar a infecção por *P. brasiliensis* em cães domésticos, através de exames sorológicos em dois bairros da cidade de Pelotas-RS, avaliando e comparando o uso de dois conjugados para detecção de anticorpos anti-*P. brasiliensis*.

2. METODOLOGIA

Foram coletados 116 cães, semidomiciliados e errantes, na cidade de Pelotas, sendo 58 pertencentes ao bairro Três Vendas e 58 ao bairro Fragata. Realizou-se a coleta de sangue periférico destes animais, através de punção

venosa de veia cefálica ou jugular. Posteriormente as amostras foram abrigadas em tubos sem anticoagulante, centrifugadas para separação do soro e congeladas a -20° até a posterior utilização para análise.

Para detecção de anticorpos anti-gp43 foi realizada a técnica de ELISA indireto. Microplacas de 96 poços foram sensibilizadas com antígeno gp43 de *P. brasiliensis* em tampão carbonato-bicarbonato com pH 9,6 incubadas *overnight* a 4°C. Subsequentemente as placas foram bloqueadas com PBS-leite a 5% e incubadas a 37°C por uma hora. Posteriormente adicionou-se soro sanguíneo diluído em PBS, e as microplacas incubadas por mais uma hora a 37°C. Em seguida, incorporou-se conjugado e as placas foram novamente para a estufa a 37°C durante uma hora. Com solução contendo peróxido de hidrogênio e orto-fenilendiamina em tampão citrato-fosfato (pH4) e incubado no escuro por 10 min, realizou-se a revelação da reação. A interrupção da reação deu-se pela adição de ácido sulfúrico 3M e a absorbância foi determinada em leitores de microplacas com filtro de 450 nm. Entre todos os passos do teste, pós-incubação, realizou-se lavagem com solução salina tamponada com fosfato acrescido de 0,5% de *Tween* 20, por cinco vezes.

Alguns dados como sexo, idade, procedências e raça, foram apanhados para posterior análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 116 caninos avaliados, 25,9% resultaram positivamente para o teste sorológico no bairro Três Vendas/Pelotas-RS e 44,8% positivamente no bairro Fragata/Pelotas-RS no conjugado IgG anti-gp43. De acordo com os dados, essa soropositividade não é influenciada por idade, raça ou sexo dos animais, isso deve-se ao fato de cães de vida livre possuírem os hábitos semelhantes entre eles, sendo eles cavar e farejar, independentemente de gênero ou idade, pois é inerente a espécie. Em pesquisas anteriores, também não há discrepância em relação a ligação entre essas variáveis, como já citado em outros estudos com caninos (FONTANA *et al.*, 2010).

O maior número de casos positivos foi obtido no bairro Fragata, possivelmente pela grande quantidade de vias sem pavimentação, com presença de terrenos arenosos e saneamento básico ainda considerado precário. Também foi observado um considerável número de cães positivos no bairro Três Vendas, sugerindo-se o mesmo motivo citado no bairro Fragata, que embora geograficamente separado do bairro Três Vendas, tem características físicas semelhantes. Dessa forma, sugere-se que este seja um habitat propício para o estabelecimento e desenvolvimento do fungo, o que concorda com estudos realizados anteriormente (RESTREPO *et al.*, 2001).

Em Pelotas, a PCM vem crescendo em números de casos em humanos nos últimos anos, porém devido ao extenso período de latência que a doença apresenta, acredita-se que esses casos possam não ser originários da região (SOUZA *et al.*, 2014).

Destaca-se então a importância da espécie canina no presente estudo, devido, principalmente, ao seu convívio cada vez mais próximo aos humanos e também por não apresentar hábitos migratórios.

4. CONCLUSÕES

Foram detectados, nos caninos coletados no município de Pelotas, anticorpos IgG específicos contra *P. brasiliensis*, confirmando a exposição desses

animais ao agente em questão, a partir do teste com proteína G-peroxidase e apresentando positividade. Afirmando assim, a presença do fungo nestes dois diferentes bairros na cidade de Pelotas, uma vez que esses animais não possuem hábitos migratórios, porém podem se deslocar de um bairro a outro, porque possuem comportamento vil, uma vez que são errantes e ou tem livre acesso a rua.

O sexo, raça e idade analisados não influenciaram na soropositividade dos animais testados, dado que os mesmos podem estar em contato igualmente com o agente e se infectar, justificado pelo comportamento da espécie canina ser independente de gênero.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANO, A.P.; KLAFKE, G.B.; BRANDOLT, T.M.; DA HORA, V.P.; MINELLO, L.F.; JORGE, S. SANTOS, E.O.; BEHLING, G.M. CAMARGO, Z.P.; XAVIER, M.O.; MEIRELES, M.C. Wild animals as sentinels of *Paracoccidioides brasiliensis* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycopathologia**, v. 177, n.3-4, p. 207-15, 2014.

BAGALI, E.; BOSCO, S. M. G. Armadillos and dimorphic pathogenic fungi: Ecological and evolutionary aspects. In **The Biology of the Xenarthra University Press of Florida**, Gainesville, 2008; p. 103-110.

BRUMMER, E.; CASTANEDA, E.; RESTREPO, A. Paracoccidioidomycosis: an update. **Clinical Microbiology Reviews**; v.6, p. 89-117, 1993.

FARIAS M.R.; CONDAS, L.A.Z.; RIBEIRO, M.G.; BOSCO S.M.; MURO M.D.; WERNER J.; THEODORO, R.C.; BAGAGLI, E.; MARQUES, S.A.; FRANCO, M. Paracoccidioidomycosis in a dog: Case report of generalized lymphadenomegaly. **Mycopathologia**, v. 172, p.147-152, 2011.

FONTANA, F.F.; SANTOS, C.T.B.; ESTEVES, F.M.; ROCHA, A.; FERNANDES, G.F.; AMARAL, C.C.; DOMINGUES, M.A.; CAMARGO, Z.P; SILVAVERGARA, M.L. Seroepidemiological survey of paracoccidioidomycosis Infection among urban and rural dogs from Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Mycopathologia**. v. 169, p.159-165, 2010.

MARQUES, S.A. Paracoccidioidomicose: centenário do primeiro relato de caso. **An Bras Dermatol**.v.83, n.3, p.271-273, 2008.

PANIAGO, A.M.; AGUIAR, J.I.; AGUIAR, E.S.; da CUNHA, R.V.; PEREIRA, G.R.; LONDERO, A.T.; WANKE, B. Paracoccidioidomycosis: a clinical and epidemiological study of 422 cases observed in Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.4, p.455-459, 2003.

RESTREPO, A.; TOBÓN, A.; AGUDELO, C. Paracoccidioidomycosis. In: **Diagnosis and Treatment of Human Mycoses**. Hospenthal DR, Rinaldi MG, editors. Totowa, NJ: Humana Press; p. 331–342, 2008.

RICCI, G.; MOTA, F.T.; WAKAMATSU, A.; SERAFIM, R.C.; FRANCO M. Canine paracoccidioidomycosis. **Medical Mycology**, v. 42, p. 379-383, 2004.

SOUZA, S.P.; JORGE, V.M.; XAVIER, M.O. Paracoccidioidomycosis in southern Rio Grande do Sul: A retrospective study of histopathologically diagnosed cases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.1, p. 243-247, 2014.

VERLI, F.D.; MARINHO, A.S.; SOUZA, S.C.; FIGUEIREDO, M.A.S.; YURGEL, L.S. Perfil clínico epidemiológico dos pacientes portadores de Paracoccidioidomicose no Serviço de estomatologia do Hospital São Lucas da Pontifica Universidade Católica do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 234-237, 2005.