

Pythium insidiosum: avaliação de imunoterápico para eqüinos, utilizando-se coelhos como modelo experimental*

JANIO MORAIS SANTURIO

Laerte Ferreiro (Orientador - UFRGS)

Banca: David Driemeier (UFRGS), Mario Carlos Araújo Meireles (UFPel), Sydney Hartz Alves (UFSM)

A pitiose é uma doença granulomatosa, tendo como agente etiológico *Pythium insidiosum* De Cock, 1987, que atinge eqüinos, provocando quadro infeccioso na pele e tecido subcutâneo, caninos com apresentação gastrintestinal e cutânea , bovinos com doença cutânea , felinos e humanos, com quadro clínico de arterite, queratite e celulite periorbital. Esta enfermidade é mais prevalente em áreas tropicais, subtropicais ou temperadas. Também animais silvestres podem se infectar pela doença. O gênero *Pythium* pertence ao Reino *Stramenopila*, Filo *Oomycota*, cujos membros caracterizam-se por produção de zoósporos biflagelados durante a reprodução assexuada. O desenvolvimento de pitiose experimental nas espécies naturalmente infectadas não foi ainda relatado, mas os coelhos são sensíveis à inoculação de zoósporos e podem ser usados como modelo experimental para estudo da pitiose. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de 3 processos de produção de imunoterápicos contra pitiose, produzidos a partir do cultivo e posterior maceração ou sonicação, em coelhos infectados experimentalmente com 17.500 zoósporos do oomiceto *Pythium insidiosum* (cepa CBS 101555). Todos os coelhos foram inoculados com zoósporos 1 mês antes da aplicação dos imunoterápicos. Para avaliação dos imunoterápicos, os coelhos que desenvolveram lesões foram divididos em 4 grupos de 5 animais: Grupo 1 – Tratado com placebo; grupo 2 – tratado com o imunoterápico sonicado; grupo 3 – tratado com o imunoterápico misto(sonicado e macerado) e o grupo 4 - Imunoterápico macerado mecanicamente. Todos os animais receberam 8 doses do imunoterápico ou placebo com intervalos de 14 dias. Um mês após a inoculação dos zoósporos móveis, foram iniciadas as medições das áreas inoculadas. Os resultados indicaram que o imunoterápico macerado, utilizado no grupo 4, foi estatisticamente ($P<0.05$) mais eficiente que os demais, diminuindo em até 71,8% a área dos nódulos provocados pelo *Pythium insidiosum*, após 26 semanas de avaliação. Neste período 2 coelhos deste grupo foram curados. Os animais do Grupo 2 que receberam o imunoterápico sonicado, não mostraram nenhuma reação, detectando-se aumento de até 211,8% no tamanho das lesões. Nos coelhos do grupo 3, imunoterápico misto, houve aumento das lesões em 50%. A provável causa deste insucesso com o grupo 2, está na desnaturação dos抗ígenos protetores através dos processos de sonicação. Os dados gerados nesta tese podem inferir que, futuramente, novas perspectivas se abrem para o estudo da pitiose e seu controle.

Descritores: *Pythium insidiosum*, pitiose, coelho, imunoterapia, zoósporo,Oomycota.

Apresentada: 04 fevereiro 2004

*Tese de Doutorado n. 35 (Especialidade: Micologia). 71f. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária – UFRGS, Porto Alegre/RS. CORRESPONDÊNCIA: J.M. Santurio [santurio@mail.ufsm.br].

ABSTRACT OF DISSERTATION

Pythium insidiosum: evaluation of an immunotherapeutic for horses using the rabbit as an experimental model**

JANIO MORAIS SANTURIO

Laerte Ferreiro (Adviser - UFRGS)

Committee: David Driemeier (UFRGS), Mario Carlos Araújo Meireles (UFPel), Sydney Hartz Alves (UFSM)

Pythiosis is a granulomatous disease with prevalence in tropical, subtropical or temperate areas in the world, with the *Pythium insidiosum* as its etiologic agent (De Cock, 1987). The *P. insidiosum* forms of infection vary according to the species, affecting the cutaneous and subcutaneous areas in the horse, the gastrointestinal and cutaneous tissues in the dog, the cutaneous tissue in cattle, being usually associated with arteritis, keratitis and periorbital cellulitis in cats and man. Moreover, wild animals can also be infected by the disease. The genera *Pythium* belongs to the Kingdom *Stramenopila*, Phylum *Oomycota*, which are characterized by the production of biflagellate zoospores during the asexual reproduction. Experimental models of pythiosis in naturally infected species have not yet been reported but rabbits may be inoculated with zoospores as an experimental model for the study of the disease. The present study evaluates the efficacy of three processing variants of an immunotherapeutic using the rabbit as the experimental model. Approximately 17,500 zoospores of oomycete *P. insidiosum* (CBS 101555 strain), processed by either sonication and/or vortexing, were inoculated in each animal to experimentally induce the disease. All rabbits were inoculated with viable zoospores one month prior to the administration of the immunotherapics. Four groups of 5 animals each were employed, as follows: Group 1 = placebo, Group 2 = sonicated immunotherapeutic, Group 3 = mixed (sonicated and vortexed) immunotherapeutic, Group 4 = vortexed immunotherapeutic. Eight doses of immunotherapeutic or placebo were given to each animal following a 14 day interval between injections. The physical measurement of the inoculated areas was initiated a month after the inoculation of the zoospores. After 26 weeks of evaluation, rabbits receiving the vortexed immunotherapeutic (Group 4) were most effectively protected ($P<0.05$), which was demonstrated by a 71.8% decrease in the area of costal nodules caused by *P. insidiosum*. Moreover, two animals in this group showed complete remission of the infection at the end of the 26 weeks. In contrast, rabbits given the sonicated immunotherapeutic (Group 2) or mixed sonicated and vortexed immunotherapeutic (Group 3) did not show any immune protection compared with placebo (Group 1), with a 211.8% and 50.0% increase in the size of lesions, respectively. The failure in immune response to the sonicated immunotherapeutic may reflect the occurrence of denaturation of the protective antigens due to the method *per se*. The data generated in this study sheds light to new perspectives for the study and control of the pythiosis in animals and man.

Key words: *Pythium insidiosum*, pythiosis, rabbit, immunotherapy, zoospores, Oomycota.

Presented: 04 February 2004

**Doctoral Dissertation # 35 (Field: Mycology). 71p. Graduate Program in Veterinary Sciences, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/Brazil. CORRESPONDENCE: J.M. Santurio [santurio@mail.ufsm.br].