

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Ensaio de imunoadsorção enzimática como diagnóstico de esporotricose
felina**

Débora Matilde de Almeida

Pelotas, 2023

Débora Matilde de Almeida

**Ensaio de imunoadsorção enzimática como diagnóstico de esporotricose
felina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Clínica Médica Veterinária)

Orientador: Márcia de Oliveira Nobre

Pelotas, 2023

A445e Almeida, Débora Matilde de

Ensaio de imunoadsorção enzimática como diagnóstico de
esporotricose felina [recurso eletrônico] / Débora Matilde de Almeida ;
Márcia de Oliveira Nobre, orientadora ; Sérgio Jorge, coorientador. —
Pelotas, 2023.

79 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em
Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas,
2023.

1. Diagnóstico. 2. Gatos. 3. ELISA. 4. Sorologia. 5. Proteína
recombinante. I. Nobre, Márcia de Oliveira, orient. II. Jorge, Sérgio,
coorient. III. Título.

CDD 636.80896959

Débora Matilde de Almeida

Ensaio de imunoadsorção enzimática como diagnóstico de esporotricose felina

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 28/02/2023

Banca examinadora:

Prof.^a Dr^a Márcia de Oliveira Nobre (Orientador)
Doutora em ciências veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.^a Dr^a Renata Osório de Faria
Doutora em ciências veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.^a Dr^a Natasha Rodrigues de Oliveira
Doutora em ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof.^a Dr^a Fabiane Borelli Grecco
Doutora em ciências veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Aos meus familiares, pelo apoio constante e pelo entendimento que, às vezes, a saudade é necessária para que se haja grandes conquistas.

Aos meus cães, por estarem ao meu lado mesmo quando não pude dar plena atenção, pelo carinho em horas difíceis que só faz reafirmar que as intervenções assistidas por animais são mágicas.

Ao meu companheiro, pelo suporte, pelo amor, pelo carinho e paciência, por estar ao meu lado independente da situação.

Às minhas amizades, por me socorrer nas pequenas e grandes coisas, pelo entendimento, pela companhia sincera e pelas caronas.

Ao pessoal da Biotecnologia, principalmente as gurias, por sempre serem compreensivas e estarem dispostas a ensinar com excelência do mais simples ao mais complexo.

Ao meu coorientador, por sempre me estar presente nas dúvidas, pelo apoio nas horas de surto e incertezas.

À minha orientadora, pelas longas e construtivas conversas, pelos ensinamentos, pelos sermões, pela empatia e por fazer parte da construção acadêmica e profissional de mim.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pelo apoio.

“Todas as graças da mente e do coração se escapam quando o propósito não é firme.”
William Shakespeare

Resumo

ALMEIDA, Débora Matilde de. **Ensaio de imunoabsorção enzimática como diagnóstico de esporotricose felina.** 2023. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A esporotricose é uma doença infecciosa causada pelo fungo *Sporothrix spp.* e é considerada uma zoonose de grande importância médica e veterinária. Embora seja uma doença que pode afetar várias espécies animais e seres humanos, a infecção é mais prevalente em gatos, sendo considerada uma das principais causas de lesões cutâneas nesses animais. O diagnóstico da esporotricose é baseado em uma combinação de achados clínicos, histórico e exames laboratoriais. O método de referência para o diagnóstico é o isolamento do agente em cultura micológica, seguido da caracterização morfológica e conversão para forma leveduriforme. No entanto, esse método pode ser demorado e nem sempre é sensível o suficiente para detectar a infecção em estágios iniciais. Nesse contexto, os testes sorológicos, especialmente o Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), têm sido estudados como uma ferramenta promissora para auxiliar no diagnóstico, pois são rápidos, não invasivos e podem ser realizados em larga escala. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um ELISA indireto para a esporotricose felina utilizando um antígeno recombinante. O artigo 1 aborda desenvolvimento de teste de ELISA utilizando a proteína quimérica rChiGp70_Eno de *S. brasiliensis* como antígeno. O teste mostrou excelente desempenho, a sensibilidade foi de 88% (IC 95%: 70%-96%) enquanto a especificidade foi de 100% (IC 95%: 85%-100%). O artigo 2 é uma revisão sistemática e meta-análise que teve como objetivo sumarizar a atual evidência encontrada na literatura científica sobre o ELISA para diagnóstico da esporotricose em humanos e gatos. A meta-análise agregou os dados de sete diferentes estudos desenvolvidos em um intervalo de 17 anos. O ELISA se mostrou outra vez como uma excelente ferramenta para auxiliar no diagnóstico da esporotricose, mostrando uma sensibilidade de 93% (IC 95%: 90%-95%) e especificidade de 91% (IC 95%: 89%-93%). O ELISA indireto é uma excelente ferramenta para auxiliar o diagnóstico da esporotricose, baseado em seu potencial de ser um teste mais rápido comparado ao método padrão, além do seu alto nível de sensibilidade e especificidade.

Palavras-chave: diagnóstico; gatos; ELISA; sorologia; proteína recombinante

Abstract

ALMEIDA, Débora Matilde de. **Enzyme-linked immunosorbent assay as diagnostic of feline sporotrichosis.** 2023. 79f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

Sporotrichosis is an infectious disease caused by the fungus *Sporothrix spp.* and is considered a zoonosis of significant medical and veterinary importance. Although the disease can affect multiple animal species and humans, the infection is most prevalent in cats, where it is regarded as one of the leading causes of cutaneous lesions. The diagnosis of sporotrichosis is based on a combination of clinical findings, patient history, and laboratory tests. The reference method for diagnosis is the isolation of the causative agent through mycological culture, followed by morphological characterization and conversion to the yeast form. However, this method can be time-consuming and may not always possess sufficient sensitivity to detect the infection in its early stages. In this context, serological tests, particularly the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), have been studied as a promising diagnostic tool due to their rapid, non-invasive nature and the potential for large-scale application. The objective of this study was to develop an indirect ELISA for feline sporotrichosis using a recombinant antigen. Article 1 discusses the development of an ELISA test using the chimeric protein rChiGp70_Eno from *S. brasiliensis* as the antigen. The test demonstrated excellent performance, with a sensitivity of 88% (95% CI: 70%-96%) and a specificity of 100% (95% CI: 85%-100%). Article 2 is a systematic review and meta-analysis aimed at summarizing the current evidence in the scientific literature regarding the use of ELISA for diagnosing sporotrichosis in humans and cats. The meta-analysis consolidated data from seven different studies conducted over a 17-year period. ELISA once again proved to be an excellent tool for aiding the diagnosis of sporotrichosis, demonstrating a sensitivity of 93% (95% CI: 90%-95%) and a specificity of 91% (95% CI: 89%-93%). The indirect ELISA is an excellent diagnostic tool for sporotrichosis, given its potential to serve as a faster alternative to the standard method, in addition to its high sensitivity and specificity.

Keywords: diagnosis; cats; ELISA; serology; recombinant protein