

Estudo da patogenicidade de espécies de *Pythium* spp. isoladas de ambiente aquático

SILVEIRA, J. S.¹, CORRÊA, B. F.¹; STOLL, F. E.¹; BOTTON, S. A.²; DE AZEVEDO, M. I.²; SALLIS, E. S. V.³; PEREIRA, D. I. B.⁴

¹Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UFPEL-RS, ²Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), UFSM-RS, ³Faculdade de veterinária, Laboratório Regional de Diagnóstico-UFPEL, ⁴Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia, Instituto de Biologia-UFPEL-RS.

Resumo

O gênero *Pythium* possui 127 espécies conhecidas. Dentre as várias doenças causadas por espécies desse gênero, destaca-se a pitiose em animais, sendo causada pela espécie *P. insidiosum* a qual requer ambiente aquático para manter seu ciclo na natureza. . O objetivo do presente estudo foi avaliar a patogenicidade de *P. catenulatum* e *P. insidiosum* isolados de ambientes aquáticos do Rio Grande do Sul. O experimento consiste na inoculação experimental em coelhos de duas espécies de *Pythium* spp. isolados de ambientes aquáticos. Os resultados permitem concluir que somente a espécie *P. insidiosum* apresenta patogenicidade para mamíferos.

Introdução

Segundo Kirk *et al.* (2001), o gênero *Pythium* possui 127 espécies conhecidas, de distribuição cosmopolita, sapróbias em ecossistemas terrestres e aquáticos e/ou parasitas. Dentre as várias doenças causadas por espécies desse gênero, destaca-se a pitiose em animais, descrita em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, sendo causada pela espécie *P. insidiosum* (Alexopoulos *et al.*, 1996). Atinge várias espécies de mamíferos, porém é mais freqüente em equinos e humanos. Segundo Miller (1983), o ciclo de vida do *P. insidiosum* requer ambiente aquático e uma planta como hospedeiro para manter seu ciclo na natureza, onde se reproduz formando as estruturas infectantes. Acredita-se que os animais se infectem com *P. insidiosum* ao entrar em contato com águas estagnadas em açudes, lagos e pântanos (Chafin *et al.*, 1995). Pesquisas que avaliem a patogenicidade de *P. insidiosum* isolado de

águas, assim como de outras espécies de *Pythium* não são descritas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a patogenicidade de *P. catenulatum* e *P. insidiosum* isolados de ambientes aquáticos do Rio Grande do Sul.

Metodologia

P. insidiosum e *P. catenulatum* foram isolados de ambientes aquáticos dos municípios de Uruguaiana e Chuí /RS, respectivamente, sendo identificados e caracterizados através de sua morfologia e técnicas moleculares. A avaliação da patogenicidade foi realizada por meio da reprodução experimental da enfermidade em coelhos utilizando como inóculo zoósporos de *Pythium* obtidos por zooporo-genese *in vitro*, conforme descrito por Pereira *et al* (2008). Para o experimento foram utilizados 4 coelhos, fêmeas, 2 meses de idade, raça Nova Zelândia. Dois animais (coelhos 1 e 2) foram inoculados por via subcutânea na região costal direita com 1 mL de meio de indução contendo aproximadamente 20.000 zoósporos viáveis de *P. insidiosum* e os outros dois (coelhos 3 e 4) foram inoculados com *P. catenulatum*. Os animais foram mantidos durante 60 dias em ambiente limpo e arejado, sendo diariamente alimentados com ração e água *ad libitum* e avaliados clinicamente. Após esse período foi realizada a eutanásia e a coleta de material para avaliação histopatológica das lesões.

Resultados e Discussão

O coelho 1 inoculado com *P. insidiosum* apresentou nodulação palpável no ponto de inoculação 14 dias após receber o inóculo. À necropsia do coelho 1 observou-se que a lesão subcutânea media 2cm x 2 cm. Na superfície de corte apresentava-se multilobulada, vascularizada e com presença de múltiplos pontos amarelados. A histopatologia pela coloração de H&E evidenciou proliferação de tecido fibrovascular e áreas multifocais de necrose eosinofílica com hifas não coradas, e infiltrado inflamatório de eosinófilos, plasmócitos, linfócitos e células gigantes tipo Langerhans. Na coloração de Grocott, foram observadas hifas, ramificadas e ocasionalmente septadas, marrom-escuras, concentradas nos centros dos piogranulomas. No coelho 2 não se observou o desenvolvimento de lesão no local de inoculação.

Os coelhos (3 e 4) inoculados com *P. catenulatum* não apresentaram desenvolvimento de lesões no ponto de inoculação e a necropsia de ambos não evidenciou lesões em outros

órgãos. A lesão subcutânea no coelho 1 apresentou características clínicas e histopatológicas similares àquelas de coelhos inoculados com zoósporos de *P. insidiosum* isoladas de mamíferos (Pereira *et al*, 2008). Este achado evidencia e confirma que as amostras de *P. insidiosum* de origem ambiental são idênticas às isoladas de animais com a infecção. Além disso, confirma-se que os animais se infectam ao entrar em contato com águas contaminadas como proposto por Miller (1983). Em estudos que utilizaram a inoculação experimental de coelhos com isolados de *P. insidiosum* oriundos de eqüinos ficou demonstrado que a reprodução da enfermidade ocorreu em aproximadamente 50% dos animais (Pereira, comunicação pessoal). Estes dados estão de acordo com os encontrados no presente estudo.

A ausência de lesões características de pitiose nos dois coelhos inoculados com *P. catenulatum* evidencia que somente o *P. insidiosum* é patógeno para mamíferos.

Conclusão

Os resultados permitem concluir que somente a espécie *P. insidiosum* apresenta patogenicidade para mamíferos, uma vez que a inoculação de *P. catenulatum* não foi capaz de induzir a doença experimentalmente.

Referências

- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL. **Introductory Mycology**. 4.ed.,. New York: John Wiley & Sons ,1996 .Chap. 23, p. 683-737.
- CHAFFIN, M.K.; SCHUMACHER, J.; MCMULLAN, W.C. Cutaneous pythiosis in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, Texas A&M University, v. 11, n. 1, p. 91-103, 1995.
- KIRK, P. M., P. F. CANNON, J. C. DAVID & J. A. STALPERS. **Dictionary of the Fungi**. , Wallingford 9 ed. CABI Bioscience, p. 640, 2001.
- MILLER, R.I. Investigations into the biology of three ‘phycomycotic’ agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia**. v. 81, p. 23-28, 1983.
- PEREIRA, D.I.B., SANTURIO, J.M., ALVES,S.H.,DE AZEVEDO, M.I., SILVEIRA, F., DA COSTA, F.F., SALLIS, E.S.V.,PÖTTER, L., FERREIRO, L. Comparison between immunotherapy and caspofungin as agents to treat experimental pythiosis in rabbits. **Journal de Mycologie Médicale** v.18, p.129-133, 2008.