

PITIOSE CANINA: UMA DOENÇA DESPERCEBIDA NA CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS

[*Canine pythiosis: an unnoticed disease in the small animal clinic*]

Luã Barbalho de Macêdo¹, Muriel Magda Lustosa Pimentel¹, Paulo Fernando Cisneiros da Costa Reis¹, Ilanna Vanessa Pristo de Medeiros Oliveira¹, Michelly Fernandes de Macedo¹, Kilder Dantas Filgueira^{1*}

¹ Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brasil.

RESUMO – A pitiose é uma doença granulomatosa decorrente da infecção pelo oomiceto *Pythium insidiosum*. Essa enfermidade tem recebido grande atenção devido à ampla distribuição do patógeno, sintomatologia variável, dificuldade no diagnóstico e necessidade de seleção de uma terapia apropriada. O presente trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura a respeito da pitiose na espécie canina, alertando o médico veterinário em considerar tal enfermidade na rotina da clínica de pequenos animais. Para a manutenção do ciclo no ambiente, o *P. insidiosum* necessita de umidade e com temperatura elevada. Não se verifica transmissão direta entre animais ou zoonótica. No Brasil há um considerável volume de estudos da pitiose em cães, principalmente nas regiões Sul e Sudeste. Frequentemente os animais afetados são machos, de grande porte, com idade inferior a três anos. Essa doença Apresenta-se sob as formas gastrointestinal e cutânea, sendo a primeira a mais frequente. A avaliação histopatológica pode representar a única ferramenta para o diagnóstico, pois rotineiramente as amostras encontram-se fixadas em formol, o que inviabiliza o seu envio para a cultura. As terapias utilizadas apresentam resultados variados e incluem combinação de antifúngicos sistêmicos, cirurgia e imunoterapia. Torna-se essencial a inclusão da pitiose na diferenciação de determinadas enfermidades cutâneas e/ou gastroentéricas que acometem os cães. Essa doença infecciosa não deve ser considerada incomum na prática da clínica veterinária, pois o que provavelmente ocorre é um subdiagnóstico, seja pela ausência de suspeita clínica ou a falta de direcionamento das amostras teciduais para laboratórios especializados.

Palavras-Chave: *Pythium insidiosum*; revisão literária; contribuição diagnóstica; *Canis familiaris*.

ABSTRACT – Pythiosis is a granulomatous infectious disease caused by the oomycete *Pythium insidiosum*. This disease has received great attention due to the pathogen wide distribution, variable symptoms, difficulty in clinical diagnosis and need for appropriate therapy selection. This study aimed to perform a literature review about the pythiosis in dogs, prompting a veterinarian to consider this disease in the small animal clinic routine. For the maintenance of the cycle in the environment, *P. insidiosum* requires water accumulation and high temperature. There is neither direct transmission among animals nor zoonotic. In Brazil, there is a considerable amount of study on pythiosis in dogs, especially in the South and Southeast regions. Often affected animals are male, large, and below three years of age. The disease shows up under the gastrointestinal and in skin forms, being the first the most common. Histopathology may represent the only tool for the diagnosis, since samples are routinely fixed in formalin, making their culture unfeasible. The therapies used have varied results and include systemic antifungal drug combination, surgery, and immunotherapy. Pythiosis should be included in the differentiation of certain skin and/or gastroenteric ailments that affect dogs. This infectious disease should not be considered unusual in the veterinary clinic practice. What may really occur is an underdiagnosis either by absence of clinical suspicion or lack of direction of the tissue samples to specialized laboratories.

Keywords: *Pythium insidiosum*; literature review; diagnostic contribution; *Canis familiaris*.

* Autor para correspondência. E-mail: kilder@ufersa.edu.br

INTRODUÇÃO

A pitiose é uma doença granulomatosa decorrente da infecção pelo oomiceto *Pythium insidiosum* (Hunning et al., 2010). Corresponde a uma enfermidade emergente em diversas regiões do mundo, especialmente em áreas tropicais, subtropicais e temperadas (Torres-Neto et al., 2010; Vieira et al., 2015). A afecção já foi relatada no continente americano, em alguns países europeus, sudeste Asiático, Oceania e, mais recentemente, na África (Hunning et al., 2010). O calor e a umidade são fatores necessários para o desenvolvimento do agente, que ocorre usualmente durante o verão e o outono. As formas infectantes são os zoósporos móveis (que se propagam em regiões alagadiças), os quais apresentam tropismo por pelos e são capazes de penetrar em soluções de continuidade em pele e mucosas (Santurio et al., 2006; Hunning et al., 2010; Mari et al., 2013).

Dentre as mais de 120 espécies do gênero, o *P. insidiosum* é a única espécie responsável por acometer equídeos, ruminantes, cães, gatos, além de alguns animais silvestres e seres humanos. Os equinos são os mais comumente afetados, seguidos pelos caninos, cuja manifestação gastrointestinal tem maior prevalência em relação à dermatológica (Santurio et al., 2006; Mari et al., 2013; Galiza et al., 2014).

Os cães infectados são principalmente os machos jovens, de grande porte e oriundos de regiões rurais ou de locais alagados (Leal et al., 2001; Mari et al., 2013). A forma gastrointestinal se demonstra com vômito, diarreia esporádica, perda de peso progressiva e dor abdominal (Santurio et al., 2006; Hunning et al., 2010). Já as lesões tegumentares são caracterizadas por extensa dermatite piogranulomatosa ulcerativa (Torres-Neto et al., 2010).

Nos equinos é mais comum à observação de grandes massas cutâneas branco-amareladas, granulomatosas, ulcerativas e necróticas, denominadas internacionalmente como *kunkers*. Tem como os principais diagnósticos diferenciais a habronemose e o sarcóide (Álvarez et al., 2013). Entretanto, existem registros isolados de pitiose entérica para a referida espécie (Bezerra-Júnior et al., 2010). Em humanos, a moléstia apresenta-se nas formas oftálmica, cutânea, subcutânea, vascular, cardiopulmonar e sistêmica (Santurio et al., 2006; Froes et al., 2009; Grooters & Foil, 2015).

O diagnóstico definitivo deve ser realizado por cultura seguida de identificação do patógeno, baseando-se em características morfológicas e reprodutivas. Quando o isolamento do agente não

for possível, técnicas histopatológicas (com aplicação de colorações especiais), imunoistoquímicas, sorológicas e moleculares podem ser utilizadas (Hunning et al., 2010). Diversos protocolos para o tratamento da pitiose têm sido empregados, como os métodos farmacológicos, cirúrgicos e imunoterápicos (Santurio et al., 2006).

No Brasil, o *P. insidiosum* ocorre em diferentes regiões geográficas, em virtude do clima tropical e abundantes fontes de água (Torres-Neto et al., 2010). Nos equinos, a doença tem sido observada consideravelmente, com notificações em vários estados como Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Pará, Bahia, Sergipe, Pernambuco, Paraíba e Ceará (Leal et al., 2001; Santurio et al., 2006; Santana et al., 2007; Maciel et al., 2008; Bandeira et al., 2009; Figueiró et al., 2009; Viana et al., 2012; Calaça et al., 2013).

No que diz respeito à distribuição da pitiose canina no País, há um considerável volume de estudos, principalmente no estado do Rio Grande do Sul (Riet-Correa et al., 1998; Rech et al., 2004; Rodrigues et al., 2006; Trost et al., 2009; Hunning et al., 2010; Martins, 2010; Maroneze et al., 2012; Mari et al., 2013) e ainda no Paraná (Froes et al., 2009), São Paulo (Larsson et al., 1997; Torres-Neto et al., 2010; Vieira et al., 2015), Minas Gerais (Cavalcanti-Júnior et al., 2007) e Mato Grosso (Stragliotto et al., 2011). Na região Nordeste tem-se conhecimento mínimo para a pitiose em caninos, com ínfimas descrições relacionadas, como a de Tôrres et al. (2013) no estado da Paraíba e Macêdo et al. (2014), no estado do Rio Grande do Norte. Além dos casos publicados, relatos informais de médicos veterinários indicam a presença da moléstia em diversos estados brasileiros (Leal et al., 2001).

Com o aumento no número de casos associados à infecção oomíctica nos últimos anos, a pitiose tem recebido grande atenção devido a fatores relacionados com a resposta imune do hospedeiro, ampla distribuição do patógeno no meio ambiente, sintomatologia variável, dificuldade no diagnóstico e necessidade de identificação específica do agente etiológico para a seleção de uma terapia apropriada (Galiza et al., 2014). Nesse sentido, o presente trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura a respeito da pitiose na espécie canina, abordando os principais aspectos dessa doença infecciosa, com o intuito de alertar o médico veterinário em considerar tal enfermidade na rotina da clínica de pequenos animais.

REVISÃO DE LITERATURA

Etiologia

O agente da pitiose, o *P. insidiosum* é um microrganismo zoospórico do Reino *Straminipila*, Classe *Oomycetes*, Ordem *Pythiales*, Família *Pythiaceae*, que habita o solo e ambientes aquáticos. O primeiro isolamento desse organismo filamentoso foi realizado em 1901 por Hann e Hoogkamer, a partir de granulomas subcutâneos em equinos (Nonnemacher et al., 2009).

Os membros do gênero *Pythium* se caracterizam por apresentar produção de zoósporos biflagelados (reprodução assexuada), reprodução sexuada oogâmica, parede celular composta de β -glucano, celulose e hidroxipolina, talo diploide e mitocôndria com crista tubular. Possuem aspectos moleculares e bioquímicos próprios, como uma rota alternativa para síntese de lisina (Santurio et al., 2006). Os oomicetos são microrganismos eucariontes semelhantes aos fungos em algumas particularidades morfológicas e de crescimento, porém, filogeneticamente distantes dos membros do Reino *Fungi* (Galiza et al., 2014).

Atualmente, o *P. insidiosum* relaciona-se de maneira mais próxima das algas, embora já tenha sido considerado, erroneamente, como fungo. Por vezes utilizam-se os termos “pseudofungo” ou “fungo-símile” (Leal, 2001; Marques et al., 2006; Grooters & Foil, 2015). Apesar de sua parede celular ter celulose e β -glucano (similarmente aos agentes fúngicos), a ausência de quitina e a reduzida importância do ergosterol como componente celular, além da presença de flagelos e capacidade de motilidade, conduzem à exclusão para uma classificação micológica (Grooters & Foil, 2015).

O gênero *Pythium* possui mais de 120 espécies distribuídas em todo planeta. A maioria tem potencial patogênico para o reino vegetal, correspondendo a principal causa da doença *damping-off* de plantas e ocasionando severos prejuízos em lavouras. Algumas espécies têm sido estudadas para utilização como controle biológico de fungos e mosquitos, enquanto apenas a espécie *P. insidiosum* é conhecida como patógeno de mamíferos e aves (Rakich et al., 2005; Santurio et al., 2006; Pesavento et al., 2008; Trost et al., 2009).

Epidemiologia

As condições ambientais são determinantes para o desenvolvimento do organismo em seu ecossistema. Para a manutenção do ciclo, o *P. insidiosum* necessita de acúmulos de água (pântanos ou banhados, lagoas, riachos, açudes e similares), com

baixa concentração de íons, pH próximo à neutralidade e temperatura elevada, entre 30°C e 40°C (Nonnemacher et al., 2009; Trost et al., 2009; Martins, 2010). A grande maioria dos casos de pitiose é observada durante ou após a estação de chuvas (Santurio et al., 2006). O acesso dos animais a ambientes externos (urbanos e periurbanos) e a fontes de água estagnada é descrito em quase todas as situações, sendo que usualmente os indivíduos permanecem por algum tempo submersos (Martins, 2010; Nobrega et al., 2013).

O ciclo de vida do *P. insidiosum* se baseia na colonização de plantas aquáticas em decomposição. Essas servem de substrato para a proliferação do microrganismo e assim favorecendo a origem das estruturas móveis e infectantes do agente, os zoósporos. Desconhece-se a preferência por determinado nicho ecológico. Os zoósporos biflagelados livres na água movimentam-se até encontrar o hospedeiro animal. Neste, ocorre fixação e encistamento do patógeno. Com o estímulo da temperatura corporal do vertebrado, há emissão do tubo germinativo (hifas), gerando um novo micélio e assim completando o ciclo. Ocasionalmente pode haver replicação do microrganismo no solo úmido (Leal et al., 2001; Gaastra et al., 2010; Martins, 2010; Nobrega et al., 2013).

Dentre as teorias da infecção, cita-se que os animais imersos na água contaminada atraem os zoósporos (devido à liberação de fatores quimiotáticos), os quais germinariam a partir de lesões mucocutâneas (Santurio et al., 2006). A necessidade de uma porta de entrada (solução de continuidade) é justificada pelo fato de as hifas do *P. insidiosum* não exercerem pressão suficiente para a penetração na pele, apesar da redução na resistência epidérmica por ação de proteinases secretadas pelo oomiceto zoospórico (Álvarez et al., 2013). Há também a possibilidade de infecção do hospedeiro através dos folículos pilosos intactos, em virtude da quimiotaxia ser mais ativa no interior de tais anexos cutâneos (Santurio et al., 2006).

O mecanismo exato para o desenvolvimento da forma gastrintérica é desconhecido, no entanto, suspeita-se que seja relacionado com a ingestão de água contaminada pelos zoósporos móveis de *P. insidiosum*. Sugere-se que os zoósporos devem penetrar na camada submucosa através de lesões pré-existentes no trato gastrointestinal (Trost et al., 2009; Hunning et al., 2010), por ingestão de refugos alimentares (principalmente ossos) ou de corpos estranhos (Trost et al., 2009; Hunning et al., 2010; Macêdo et al., 2014). Embora raramente, a forma tegumentar da pitiose canina pode induzir a disseminação sistêmica de hifas pelo mecanismo de angiointoxicidade (Martins, 2010). Propõe-se ainda

que o *P. insidiosum* tenha a capacidade de invadir insetos, como os representantes do gênero *Culex*. Essa possibilidade demonstra uma grande preocupação devido ao risco de transmissão através desses mosquitos infectados, especialmente nas regiões tropicais onde os mesmos são prevalentes (Gaastra et al., 2010).

O *P. insidiosum* é bem adaptado à temperatura corpórea dos mamíferos. Os indivíduos afetados podem ser imunocomprometidos ou clinicamente saudáveis (Gaastra et al., 2010; Grooters & Foil, 2015). A infecção em animais e no homem é casual e não tem importância na manutenção do agente no ambiente. Nos hospedeiros há somente o crescimento das hifas, sem produção das formas propagativas infectantes (Dória et al., 2009). Tradicionalmente não se verifica transmissão direta entre animais ou zoonótica (Santurio et al., 2006; Gaastra et al., 2010; Grooters & Foil, 2015). Porém tal situação ainda precisa ser totalmente elucidada. Existe um relato que cita a ocorrência de contágio direto em equinos (por exsudatos e tecidos infectados) e expõe a hipótese para o risco de contaminação humana a partir do contato com esses animais (Dória et al., 2009). Acredita-se que o período de incubação da doença oscile de semanas a meses (Rech et al., 2004; Santurio et al., 2006).

No Brasil há poucos estudos abrangentes sobre a prevalência das enfermidades causadas por oomicetos em animais nas diferentes regiões do País, ficando as publicações extremamente direcionadas a relatos de casos isolados (Galiza et al., 2014). Além dos caninos, a pitiose também já foi descrita no País em bovinos, ovinos, caprinos, felinos, asininos e equinos, onde a parcela majoritária das notificações corresponde a lesões cutâneas nesses últimos (Leal et al., 2001; Assis et al., 2008; Carrera et al., 2013; Galiza et al., 2014; Carmo et al., 2015). No pantanal mato-grossense (planície inundável), a maioria dos casos de pitiose equina é registrada entre os meses de fevereiro e maio (verão-outono), sendo que esse intervalo de tempo é condizente com o ápice de afluência hídrica, resultando nas enchentes (Santurio et al., 2006). Entretanto, Tabosa et al. (1999) analisaram 38 casos de pitiose no estado da Paraíba (em 35 equinos e três muas) e observaram que a maior ocorrência foi de sete a dez meses após o início do período pluviométrico da região.

Outras espécies são acometidas como, coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), onça-pintada (*Panthera onca*), tigre (*Panthera tigris*), urso-de-óculos (*Tremarctos ornatus*), camelo (*Camelus bactrianus*) e ainda a caracina (*Plegadis chihi*), uma ave migratória (Leal et al., 2001; Grooters, 2003; Tabosa et al., 2004; Rakich et al., 2005; Pesavento et al., 2008; Grooters & Foil, 2015). No Brasil, o

primeiro relato de pitiose cutânea canina foi escrito por Larsson et al. (1997) no estado de São Paulo. Posteriormente, outros casos de pitiose foram descritos na referida espécie por autores também brasileiros, porém com envolvimento gastrointestinal (Riet-Correa et al., 1998; Rech et al., 2004; Rodrigues et al., 2006). No Nordeste do Brasil, a pitiose em cães foi relatada recentemente e primariamente, na cidade de Patos, estado da Paraíba (Tôres et al., 2013), sucedida por uma segunda descrição, em um canídeo autóctone da cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte (Macêdo et al., 2014).

Frequentemente os cães afetados são machos, de grande porte, com idade inferior a três anos (Nonnemacher et al., 2009). Usualmente possuem acesso ao meio externo e destinam-se à execução de trabalhos e atividades, como a caça. Citam-se como as raças mais incriminadas o Labrador Retriever e o Pastor Alemão (Leblanc et al., 2008; Grooters & Foil, 2015). Em geral são oriundos de regiões com elevada concentração de água retida e/ou localidades interioranas, como a zona rural (Santurio et al., 2006; Martins, 2010). Não obstante, em algumas circunstâncias, os animais são habitantes de setores suburbanos e sem alcance a espaços alagados (Taboada & Grooters, 2010). Quando provenientes de lugares com as estações do ano bem definidas, a infecção é mais comum no inverno, outono e início da primavera. Nos cães, a moléstia é de seis a sete vezes mais frequente em relação aos gatos (Miller et al., 2013).

Sinais clínicos

A doença demonstra-se em cães sob as formas gastrintestinal e cutânea, embora essas duas raramente sejam encontradas de maneira concomitante. Outras descrições incluem a apresentação disseminada da enfermidade (apesar de insólita) ou localizada em pulmão e osso (Grooters, 2003; Rech et al., 2004; Rivierre et al., 2005; Nonnemacher et al., 2009; Gaastra et al., 2010; Pereira et al., 2010; Miller et al., 2013). Observações clínico-patológicas indicam que as alterações são desencadeadas lentamente após a infecção (Rech et al., 2004).

A manifestação gastroentérica é a mais usual (Nonnemacher et al., 2009). Normalmente o histórico clínico revela a instituição de tratamentos anteriores com antibióticos, anti-helmínticos e antieméticos, mas geralmente com resultados insatisfatórios (Rech et al., 2004; Froes et al., 2009; Vieira et al., 2015). Os sinais clínicos incluem inapetência, hipertermia, vômitos, anorexia crônica, disfagia, regurgitação, perda de peso, tenesmo, diarreia (às vezes sanguinolenta) e presença de massas nodulares à palpação abdominal. Os

episódios de vômitos ocorrem apenas quando a enfermidade atinge a parede estomacal e porção inicial do intestino delgado, levando a uma obliteração parcial ou total do lúmen desses órgãos e consequentemente dificultando o fluxo do conteúdo alimentar. Sinais de letargia ou depressão são típicos somente em obstrução, infarto ou ruptura do trato digestório. A evolução varia de quatro a 135 dias (Leblanc et al., 2008; Nonnrmacher et al., 2009; Trost et al., 2009; Martins, 2010; Stragliotto et al., 2011; Macêdo et al., 2014).

As lesões gastrointestinais caracterizam-se pelo espessamento ou formação de grandes massas transmuralis no estômago, duodeno, junção ileocólica, cólon e reto (Figura 1a). Pode ocorrer estenose do lúmen dos órgãos e não é incomum o acometimento de dois ou mais segmentos do trato digestório (Mendoza et al., 2005; Grooters & Foil, 2015). Ocasionalmente há extensão para o pâncreas, ductos biliares, útero, próstata e linfonodos regionais (Rech et al., 2004; Gaastra et al., 2010). A linfadenomegalia mesentérica (a qual é sugerida por palpação abdominal em algumas situações) é frequentemente decorrente de um processo reacional hiperplásico e inflamatório ao *P. insidiosum*, infiltrado nos órgãos adjacentes, ou devido à disseminação do agente etiológico por via linfática. O comprometimento dos linfonodos poder ser independente das alterações gastroentéricas. A disseminação do agente pelos vasos mesentéricos tende a resultar em isquemia intestinal, infarto e perfuração, com consequente hemoperitônio e peritonite. Estruturas do trato digestivo superior, como esôfago e orofaringe, ocasionalmente são atingidas pela doença (Leal et al., 2001; Hunning et al., 2010; Grooters & Foil, 2015). Os cães jovens que externem quadro crônico de inapetência, perda de peso, vômito, diarreia e massas palpáveis em abdômen (e oriundos de ambientes rurais e/ou acesso a áreas com acúmulo de água), devem ter a inclusão da pitiose gastroentérica como diagnóstico diferencial (Trost et al., 2009; Hunning et al., 2010). Em relação à pitiose cutânea canina, na anamnese relata-se uma evolução crônica e prescrição de antibioticoterapia prévia (por vezes, com mais de um ciclo e uso de diferentes princípios ativos), porém sem resultados (Torres-Neto et al., 2010). Correntemente as lesões localizam-se nas extremidades dos membros, base da cauda, tórax ventral, abdômen, região glútea, períneo e/ou face (Rech et al., 2004; Torres-Neto et al., 2010). O padrão varia de pruriginoso a aprurítico, mas a automutilação pode ser severa (Martins, 2010; Miller et al., 2013). Apesar do hábito de lambem e morder a área acometida (em razão de dor e/ou prurido), não há contaminação da cavidade oral devido a inexistência de transmissão por implantação, uma vez que os zoósporos

biflagelados (forma infectante do *P. insidiosum*) não ocorrem em lesão granulomatosa (Macêdo et al., 2014).

Inicialmente notam-se áreas levemente elevadas na pele, com eritema e alopecia (Hensel et al., 2003). No momento da abordagem clínica, as lesões frequentemente têm progressão de um a três meses e consistem de proliferações únicas ou multicêntricas (múltiplas, em vários locais), ulceradas, sem resposta cicatricial, com crostas hemorrágicas, tratos fistulosos e bordas delimitadas. O crescimento é centrífugo e devastador, assumindo um aspecto crateriforme (mimetizando a aparência de “colmeias de abelhas” ou “favos de mel”) e podendo alcançar até 30 cm de extensão (Hunning et al., 2010; Martins, 2010; Galiza et al., 2014). Contudo, não ocorrem formações necróticas, sólidas e friáveis, as quais são nomeadas de *kunkers* e comumente descritas em equinos (Rech et al., 2004). Em geral, lesões muito ulceradas e com secreção abundante apresentam alto grau de contaminação secundária e odor pútrido (Figueiró et al., 2009). Em casos mais avançados a massa é capaz de envolver, além da derme e tecido subcutâneo, a parede abdominal, costelas e órgãos internos (Hunning et al., 2010; Torres-Neto et al., 2010; Galiza et al., 2014). As dermatopatias podem progredir rapidamente mesmo sob tratamento (Santurio et al., 2006).

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico presuntivo da pitiose pode ser feito com base nas características clínicas e no aspecto morfológico lesional. Na forma gastrointestinal, a radiografia e ultrassonografia têm sido utilizadas para revelar espessamento segmentar da parede gástrica ou intestinal (associado à perda de estratificação de suas camadas), linfadenopatia mesentérica (Figura 1b) ou massa abdominal (Grooters, 2003; Froes et al., 2009; Martins, 2010). As anormalidades relacionadas ao âmbito da patologia clínica incluem principalmente anemia, leucocitose, eosinofilia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipercalcemia (Leblanc et al., 2008; Taboada & Grooters, 2010; Tôrres et al., 2013; Vieira et al., 2015).

Embora o cultivo e isolamento microbiológico seja a técnica padrão-ouro para a identificação do *P. insidiosum*, nem sempre é possível a sua execução. Normalmente é inviabilizado devido à imperícia ou imprudência durante a colheita e conservação do material suspeito (Gabriel et al., 2008; Trost et al., 2009; Galiza et al., 2014). Não obstante, muitas vezes as lesões são confundidas com neoplasias e o material fresco não é colhido, o que impede a cultura (Trost et al., 2009). O êxito pode ser obtido quando amostras teciduais são envoltas em gaze

umedecida com solução salina estéril (e acréscimo de antibióticos), sendo armazenadas e transportadas à temperatura ambiente e devendo ser processadas no máximo em até três dias. Também é fundamental o uso de meios apropriados para a cultura (Santurio et al., 2006; Grooters & Foil, 2015).

Esporadicamente, o diagnóstico pressuposto da pitiose é estabelecido pela citologia de lesões acessíveis à punção com agulha fina e verifica-se, frequentemente, inflamação piogranulomatosa supurativa e/ou eosinofílica (Figura 1c). Elementos fúngicos muitas vezes não são visualizados. Indica-se ainda a análise direta em microscópio óptico de macerado tecidual diluído e clarificado em solução de hidróxido de potássio a 10%, na tentativa de observar a presença de hifas (Gaastra et al., 2010; Hnilica, 2012; Grooters & Foil, 2015).

A avaliação histopatológica pode representar a única ferramenta disponível para conduzir ao diagnóstico etiológico, pois rotineiramente uma percentagem muito significativa das amostras encontra-se previamente fixadas em formol, o que inviabiliza o seu envio para a cultura (Trost et al., 2009; Galiza et al., 2014). Em um estudo retrospectivo, aproximadamente 83,4% dos quadros de micose e pitiose foram confirmados somente com base na histopatologia enquanto que em apenas 15,6% necessitou-se do auxílio de exames adicionais específicos. Para a constituição do diagnóstico microscópico são consideradas as características histomorfológicas e propriedades tintoriais das hifas do *P. insidiosum* (ao usar colorações especiais histoquímicas) e o tipo de resposta inflamatória do hospedeiro (Galiza et al., 2014).

O achado histológico básico é uma miscigenação de inflamação multifocal piogranulomatosa e granulomatosa com fibrose pronunciada (Santurio et al., 2006; Martins, 2010; Galiza et al., 2014). Os piogranulomas consistem em focos necróticos, sendo infiltrados e circundados por neutrófilos, macrófagos epitelióides, plasmócitos, células gigantes multinucleadas e eosinófilos (Rech et al., 2004; Hunning et al., 2010; Galiza et al., 2014), sendo esses últimos, componentes importantes do infiltrado inflamatório (Santurio et al., 2006). O elevado número de eosinófilos degranulados são os principais responsáveis pelo dano tecidual extenso e perpetuação das lesões na pitiose (Martins, 2010). Vasculite necrosante e trombos de fibrina podem ser vistos eventualmente (Krajaejun et al., 2006; Martins, 2010; Torres-Neto et al., 2010).

As hifas não são aparentes na coloração de rotina por hematoxilina-eosina (HE), embora o fenômeno de Splendore-Hoeppli (reação local com

predomínio de imunoglobulinas ou grânulos de eosinófilos) circunde espaços claros no interior dos granulomas (Martins, 2010). Com o emprego de técnicas de colorações especiais histoquímicas, como o ácido periódico de Schiff (PAS) e a metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS), as hifas tornam-se evidentes, de acordo com Macêdo et al. (2014) (Figura 1d). Todavia alguns autores mencionam que as hifas são coradas adequadamente pela GMS, diferentemente do PAS. Alterações na parede celular do agente etiológico explicariam a reduzida afinidade pelo protocolo do PAS, para algumas circunstâncias (Trost et al., 2009). As hifas apresentam-se como estruturas largas, tubulares, planas (ou onduladas), com 5 a 7 μm de diâmetro, raramente septadas e ocasionalmente ramificadas em ângulo de 90° (Araujo et al., 2009; Hunning et al., 2010; Martins, 2010). Em poucos casos, são levemente basofílicas e a variação de tamanho é maior, com espessuras que variam de 1,5 a 8,5 μm (Martins, 2010). As características de integridade e o número das hifas oscilam conforme o tipo de resposta inflamatória. Encontram-se íntegras e numerosas no centro das áreas de inflamação necro-eosinofílica e na grande maioria das vezes, escassas e degeneradas no interior dos granulomas/piogranulomas ou no citoplasma de células gigantes multinucleadas (Martins et al., 2010).

Para o diagnóstico da pitiose intestinal, recomenda-se que as amostras sejam obtidas por laparotomia. A técnica de endoscopia é contraindicada, pois não permite executar uma biópsia adequada e representativa que possibilite a identificação do agente, uma vez que confere somente o alcance de porções da mucosa e lâmina própria, sendo o processo infeccioso/inflamatório tipicamente concentrado nas camadas submucosa e muscular. Logo, torna-se essencial que os fragmentos colhidos incluam tecidos profundos da lesão (Tams, 2005; Gaastra et al., 2010; Taboada & Grooters, 2010). Essa última orientação também é aplicada para os quadros dermatológicos da pitiose (Gaastra et al., 2010). Todavia, geralmente não há identificação precoce da doença pelo exame histopatológico, onde na maioria das situações, o diagnóstico é realizado somente no período *post-mortem* (Santurio et al., 2006; Maroneze et al., 2012).

Provas sorológicas, perfil imunoistoquímico e testes moleculares equivalem a outros exames laboratoriais que conferem o diagnóstico definitivo da pitiose, despontando-se úteis quando há insucesso na cultura ou histopatologia (Grooters & Foil, 2015). A imunoistoquímica tem sido amplamente utilizada na detecção da pitiose em diferentes espécies animais. Destaca-se como método auxiliar e de suporte para um

reconhecimento correto e antecipado da afecção. Revela-se especialmente vantajoso nas situações em que se dispõe somente de material fixado em

conservantes químicos (Santurio et al., 2006; Trost et al., 2009).

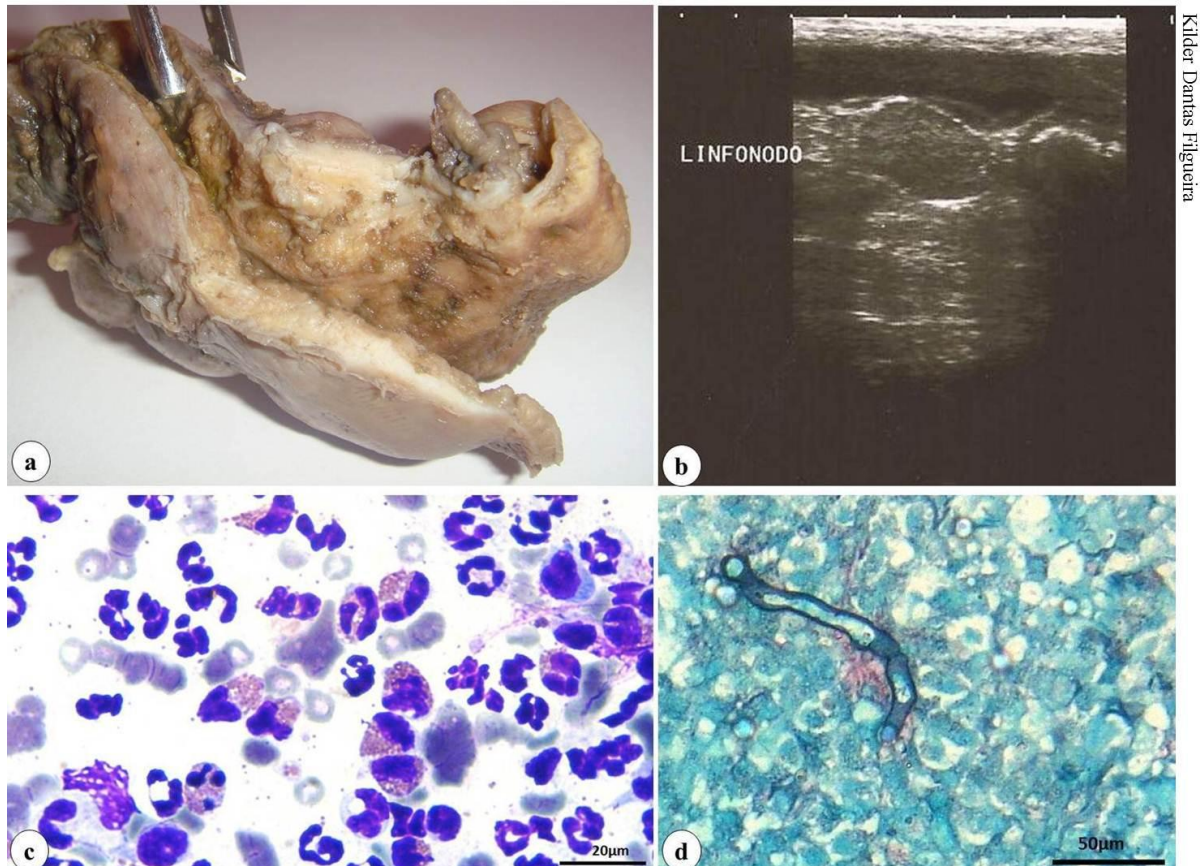


Figura 1. **a:** Pitiose entérica em fragmento de intestino grosso (fixação em solução de formol a 10%). A secção longitudinal evidenciou espessamento transmural e estenose do lúmen. **b:** Imagem ultrassonográfica abdominal demonstrando linfadenomegalia decorrente de pitiose gastrointestinal. **c:** Fotomicrografia citológica de pitiose cutânea. Verificou-se apenas predomínio de eosinófilos, sem possibilidade de identificação do agente (panótico rápido, obj. 100x, barra 20µm). **d:** Fotomicrografia histopatológica de pitiose cutânea. A coloração histoquímica revelou presença de hifa compatível com o *P. insidiosum* (metenamina nitrato de prata de Grocott, obj. 40x, barra 50µm).

Dentre as técnicas sorológicas, citam-se o *immunoblot* e o ensaio imunoenzimático (ELISA). O *immunoblot* apresenta alta sensibilidade e especificidade. O ELISA, além de proporcionar um diagnóstico precoce e não invasivo, torna-se ainda importante para o acompanhamento terapêutico e percepção prematura da recorrência da moléstia (Leblanc et al., 2008; Grooters & Foil, 2015). O sequenciamento gênico da reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma ferramenta eficaz para a identificação de *P. insidiosum* (Santurio et al., 2006). Cada vez mais a conclusão diagnóstica vem sendo obtida pela PCR, em virtude da dificuldade do isolamento por cultivo do microrganismo. Análises genéticas tem mostrado um mesmo genótipo do patógeno em humanos e equinos (Torres-Neto et al., 2010). Também não se observaram diferenças moleculares entre os exemplares de *P. insidiosum* dos cavalos, ovelhas e cães (Azevedo et al., 2012).

Nas unidades federativas nordestinas, o déficit de notificação em cães não se correlaciona com o fato de o *P. insidiosum* ser incomum. O que realmente deve ocorrer é um subdiagnóstico, seja pela ausência de suspeita clínica ou a falta de direcionamento das amostras teciduais para laboratórios especializados (Macêdo et al., 2014). No Nordeste, já foram constatadas várias descrições científicas da pitiose nos animais de produção (Assis et al., 2008; Carrera et al., 2013; Galiza et al., 2014; Carmo et al., 2015), evidenciando assim a difusão da moléstia em tal região (Macêdo et al., 2014).

Diagnóstico diferencial

Para a forma cutânea da pitiose, é essencial realizar a distinção com certas micoses subcutâneas (principalmente a zigomicose e lagenidiose), granulomas infecciosos (bacterianos ou fúngicos)

ou reacionais a corpos estranhos, tecido de granulação exuberante, dermatite acral por lambadura, piodermite profunda, queimadura grave, leishmaniose, piogranuloma estéril idiopático, necrólise epidérmica tóxica, dermatopatias por venenos, toxinas e peçonhas, farmacodermia e neoplasias (Leal et al., 2001; Torres-Neto et al., 2010; Miller et al., 2013; Torres et al., 2014). A pitiose gastroentérica deve ser diferenciada de zigomicose intestinal, enterite granulomatosa regional, gastroenterite eosinofílica difusa, enterite linfoplasmocitária, corpo estranho gastrointestinal, intussuscepção e neoplasias, como o linfoma alimentar (Rech et al., 2004; Trost et al., 2009; Hunning et al., 2010).

Terapia

O tratamento da infecção por *P. insidiosum* em animais e humanos é difícil, pelas características do agente, sobretudo da composição de sua parede celular. O ergosterol (componente alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas) não é o principal esteroide da membrana plasmática do oomiceto. Devido a esse aspecto, teoricamente, os fármacos antifúngicos tradicionais são ineficientes contra o *P. insidiosum* (Leal et al., 2001; Martins, 2010). As terapias utilizadas apresentam resultados variados e podem incluir, além da combinação de antimicóticos sistêmicos, a cirurgia e a imunoterapia (Maroneze et al., 2012). Alguns cães podem evoluir para uma deterioração do quadro clínico ao ponto de ir a óbito espontâneo ou serem submetidos à eutanásia (Trost et al., 2009). O sucesso do tratamento é influenciado pelo tamanho e duração da lesão, idade e estado nutricional do animal (Torres et al., 2014). A ressecção cirúrgica radical é indicada devido à resistência farmacológica do *P. insidiosum* (Froes et al., 2009). A associação de antifúngicos é geralmente utilizada após a exérese da área comprometida, como medida preventiva para o crescimento do agente (Vieira et al., 2015). Segundo alguns autores, a terapia operatória é de escolha para a pitiose em equinos, caninos e humanos. Nestes últimos é comum a amputação de membros como tentativa de eliminar a infecção (Rakich et al., 2005; Hunning et al., 2010; Pires et al., 2012). Em cavalos e cães, executa-se bastante a técnica de *debulking* (remoção parcial ou marginal da lesão) ou o debridamento tecidual, mas com um alto índice de recorrência (Gaastra et al., 2010; Torres-Neto et al., 2010). A recidiva é observada no sítio da exérese ou em linfonodos regionais (Taboada & Grooters, 2010). Nas situações de envolvimento gastroentérico, orienta-se a excisão de segmentos com três a quatro centímetros de margens, se possível (Miller et al., 2013). Em geral, o tratamento cirúrgico apresenta bons resultados apenas em lesões pequenas e superficiais, nas quais

seja praticável a completa ablação da área comprometida (Santurio et al., 2006). Entretanto, dependendo da localização e amplitude da zona anatômica afetada, como esôfago, raiz do mesentério (artéria mesentérica cranial) e reto, uma abordagem cirúrgica extensa pode tornar-se inviável (Torres-Neto et al., 2010; Vieira et al., 2015).

No Brasil, o teste de eficiência de um imunobiológico (Pitium Vac[®]) para o tratamento da pitiose equina, produzido a partir de culturas do *P. insidiosum*, demonstrou índice de cura que variou de 50% a 83,3%. Em contrapartida, a imunoterapia em cães tem sido desapontadora, pois somente 33% destes responderam ao tratamento (Santurio et al., 2006). Contudo, nos casos de diagnóstico precoce da pitiose canina, a resolução clínica pode ser obtida quando o imunoterápico é utilizado em conjunto com a associação de fármacos antifúngicos (Maroneze et al., 2012). A imunoterapia é bastante relevante em cães que possuem a doença com tempo de evolução inferior a dois meses (Paterson, 2010).

Em relação à terapêutica farmacológica, os agentes químicos mais empregados correspondem a anfotericina B, cetoconazol, miconazol, fluconazol e itraconazol, além dos compostos iodínicos como iodeto de potássio e de sódio (Santurio et al., 2006; Martins, 2010). Os resultados obtidos com as drogas antifúngicas têm sido variáveis, tanto *in vitro* como *in vivo* (Leal et al., 2001). O tratamento clínico isolado pode apresentar uma frequência de sucesso inferior a 25% e chega a alcançar uma taxa de eficácia acima de 20% (Hnilica, 2012). Uma das justificativas para tal fato poderia ser em decorrência da colagenização tecidual pela cronicidade do processo, dificultando a atuação medicamentosa. A anfotericina B não expressa atividade satisfatória, enquanto os azólicos fluconazol, cetoconazol e miconazol inibiram o crescimento *in vitro* de isolados de *P. insidiosum* (Leal et al., 2001). Em outro teste, a anfotericina B, fluocitosina, miconazol e griseofulvina não impediram o desenvolvimento do microrganismo, ao passo que o itraconazol mostrou ação moderada e o cloridrato de terbinafina revelou resposta adequada. Nesse estudo, a associação dos tradicionais antimicóticos itraconazol e cloridrato de terbinafina explicitou um efeito sinérgico (Santurio et al., 2006; Martins, 2010). Tal combinação equivale a uma das terapias clínicas mais prescritas para a pitiose, com demonstração de efetividade (Gaastra et al., 2010; Hunning et al., 2010; Paterson, 2010; Maroneze et al., 2012). Essa citação foi reforçada por Macêdo et al. (2014), ao obterem resultado satisfatório no tratamento da forma mista da pitiose em um cão com os antifúngicos itraconazol e cloridrato de terbinafina

(ambos na posologia de 5 mg.kg⁻¹, via oral, a cada 24 horas, durante 102 dias). Todavia, estudos taxonômicos indicam que a espécie *P. insidiosum* tem uma maior proximidade com a classe das algas do que dos fungos (Froes et al., 2009).

O itraconazol (ITL[®], Cepav Pharma Ltda, São Paulo, Brasil) é um derivado triazólico sintético, a princípio indicado para micoses superficiais (dermatofitose, candidose, malasseziose) e sistêmicas (aspergilose, histoplasmose, esporotricose, blastomicose). Já o cloridrato de terbinafina, antifúngico químico do grupo das alilaminas, tem como principais alvos os dermatófitos e o gênero *Candida* (Nobre et al., 2002). Os níveis teciduais do itraconazol (especialmente na pele) são cinco vezes superiores aos sanguíneos, enquanto o cloridrato de terbinafina liga-se rapidamente as proteínas plasmáticas, possui rápida difusão pela derme e concentra-se no estrato córneo lipofílico (Nobre et al., 2002). Logo, a ação simultânea de ambos os fármacos pode justificar o sucesso terapêutico e prognóstico favorável para alguns casos de pitiose canina (Macêdo et al., 2014). As equinocandinas fazem parte de uma nova classe de antifúngicos (lipopeptídios) que representam, talvez, a grande promessa para mudar a forma de tratamento das micoses sistêmicas da próxima década. Esses compostos fungicidas atuam na inibição da β -glucano sintetase e assim bloqueiam a síntese de β -glucano, componente presente na parede celular dos fungos e também dos oomicetos, como o *P. insidiosum* (Maddison, 2010).

A caspofungina foi o primeiro dos inibidores da β -glucano sintetase a ser utilizado. No entanto, além de o seu efeito sobre o agente da pitiose ser altamente oscilante, torna-se indisponível para os pequenos animais devido ao custo elevado. Portanto, é contínua a busca por uma terapia química sérica específica para a pitiose (Gaastra et al., 2010; Maddison, 2010). Tópicamente recomenda-se antisséptico, como o iodopovidona degermante, uma vez ao dia (Dória et al., 2009).

Pesquisas experimentais *in vitro* e *in vivo* (tendo o coelho como modelo animal), evidenciaram que a terapia fotodinâmica possuiu êxito na inativação do *P. insidiosum*. Corresponde a uma técnica que promove a interação entre fármaco fotossensibilizador (administrado por via endovenosa), ondas de luz e oxigênio, objetivando a destruição celular, e desponta como uma proposta inovadora e promissora, sendo uma alternativa terapêutica para a pitiose cutânea (Pires et al., 2012).

Importância em saúde pública

Conforme a maioria dos estudos, não se verifica a transmissão entre os hospedeiros, seja de maneira intra ou interespecífica. Ainda assim, recomenda-se adotar precauções ao manusear tecidos com infecções secundárias e exsudatos (Grooters & Foil, 2015). Os médicos veterinários e demais profissionais de saúde devem estar cientes da importância da distinção entre a pitiose e as doenças fúngicas caninas em virtude das diferenças nos âmbitos epidemiológico, terapêutico e prognóstico (Grooters, 2003; Torres-Neto et al., 2010).

Os cães podem servir como agentes sentinelas, pois embora a enfermidade usualmente não possua caráter zoonótico, a presença da pitiose nesses animais é sinalizadora de contaminação ambiental e consequentemente expondo os seres humanos ao risco iminente de infecção (Araujo et al., 2009). A pitiose é uma moléstia zoonótica emergente, com registro do primeiro caso de contágio humano no Brasil há apenas oito anos atrás (Marques et al., 2006). Logo, nos últimos tempos, a afecção vem paulatinamente a merecer destaque tanto na medicina veterinária como na humana (Santurio et al., 2006). Na região nordeste do País, os reservatórios hídricos são comumente usados por pessoas para a prática de lazer, e assim as mesmas tornam-se sujeitas a possibilidade de aquisição da pitiose (Carmo et al., 2015). Assim como nos animais, a pitiose nos homens possui uma alta taxa de morbidade e mortalidade, especialmente em localidades com carência de métodos para o estabelecimento de diagnóstico precoce e tratamento eficaz (Gaastra et al., 2010). O conhecimento do ciclo da pitiose é essencial para a implantação e divulgação de medidas de controle sanitário direcionado à prevenção, seja nas espécies domésticas ou humana (Araujo et al., 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Torna-se essencial a inclusão da pitiose na diferenciação de determinadas enfermidades cutâneas e/ou gastroentéricas que acometem os cães. Essa doença infecciosa não deve ser considerada incomum na prática da clínica veterinária. Na realidade, o que provavelmente ocorre é um subdiagnóstico, seja pela ausência de suspeita clínica ou a falta de direcionamento das amostras teciduais para laboratórios especializados. Diante de um canino acometido por pitiose, o conhecimento epidemio-sintomatológico em associação a adoção de exames laboratoriais adequados é essencial para a identificação precoce da doença, com reflexo positivo na conduta terapêutica e prognóstico do animal.

REFERÊNCIAS

- Álvarez, J. C., Vilorio, M. V., Ayola, S. P. 2013. Pitiose cutânea equina: uma revisão. *Revista CES - Medicina Veterinária e Zootecnia*, 8 (1): 58-67.
- Araujo, Y. J. S., Colmenares, V. D. R., Alvarado, A. A. M., Luis-León, J. J., Castejón, O. 2009. Estructura y ultraestructura de *Pythium insidiosum* en la pitiosis gastrointestinal canina. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29 (2):117-121.
- Assis, A. C. O., Miranda-Neto, E. G., Medeiros, J. M. A., Medeiros, J. M., Silva, T. R., Nóbrega-Neto, P. I., Lima, S. M. 2008. Estudo retrospectivo dos casos de pitiose diagnosticados no hospital veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, 11(1), supl. 2.:323.
- Azevedo, M. I. D., Pereira, D. I., Botton, S. A., Costa, M. M. D., Mahl, C. D., Alves, S. H., Santurio, J. M. 2012. *Pythium insidiosum*: morphological and molecular identification of Brazilian isolates. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (7): 619-622.
- Bandeira, A., Santos, J., Melo, M., Andrade, V., Dantas, A., Araujo, J. 2009. Pitiose equina no Estado de Sergipe, Brasil. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, 12 (1-3): 46-54.
- Bezerra-Júnior, P. S., Pedrosa, P. M. O., Pavarini, S. P., Dalto, A. G. C., Santurio, J. M., Driemeier, D. 2010. Equine intestinal pythiosis in Southern Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62 (2): 481-483.
- Calaça, A. M. M., Freitas, J.R., Barcellos, L. C., Moura, V. M. B. D., Brandsletter, L. R. G. Tratamento de pitiose crônica em equino com imunoterapia. In: Simpósio Internacional do Cavalo Atleta, 6, 2013, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias/Escola de Veterinária/ UFMG, 2013, p. 134-135.
- Carmo, P. M. S., Portela, R. A., Silva, T. R., Oliveira-Filho, J. C., Riet-Correa, F. 2015. Cutaneous pythiosis in a goat. *Journal of Comparative Pathology*, 152(2-3):103-105.
- Carrera, M. V., Peixoto, R. M., Gouveia, G. V., Pessoa, C. R. M., Jesus, F. P. K., Santurio J. M., Botton, S.A., Costa, M. M. 2013. Pitiose em ovinos nos estados de Pernambuco e Bahia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(4):476-482.
- Cavalcanti-Júnior, H. H., Del Barrio, M. A. M., Giordano, P. P., Elston, L. B., Oliveira Neto, F. A., Santos, C. F. Gastrite granulomatosa em Retriever do Labrador pela infecção por *Pythium insidiosum* - relato de caso. In: Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, 7, 2007, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais – São Paulo, 2007, p. 50-52.
- Dória, R. G. S., Freitas, S. H., Arruda, L. P., Laskoski, L. M., Mendonça, F. S., Valadao, C. A. A. Relato do primeiro caso no Estado de Mato Grosso de transmissão direta de pitiose em equinos. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 36, 2009, Porto Seguro. *Anais...* Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária/Sociedade de Medicina Veterinária da Bahia, 2009, p. 26-29.
- Figueiró, G. M., Baiotto, G. C., Spadetto-Júnior, O., Barioni, G., Souza, T. D., Paoli, T. M. P., Araújo, A. L., Cupertino, C. F. Relato de 11 casos de pitiose equina atendidos no hospital veterinário "Prof. Ricardo A. Hippler" do Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha – ES. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 36, 2009, Porto Seguro. *Anais...* Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária/Sociedade de Medicina Veterinária da Bahia, 2009. p. 86.
- Froes, T. R., Paiva, S. C. C. S., Lima, L., Afonso, D. O., Werner, J. 2009. Diagnóstico clínico e ultrassonográfico da pitiose canina: relato de caso. *Clínica Veterinária*, 14(80): 28-32.
- Gastra, W., Lipman, L. J. A., De Cock, A. W. A. M., Exel, T. K., Pegge, R. B. G., Scheurwater, J., Vilela, R., Mendoza, L. 2010. *Pythium insidiosum*: an overview. *Veterinary Microbiology*, 146(1-2):1-16.
- Gabriel, A. L., Kommers, G. D., Trost, M. E., Barros, C. S., Pereira, D. B., Schwendler, S. E., Santurio, J. M. 2008. Surto de pitiose cutânea em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(12):583-587.
- Galiza, G. J., Da Silva, T. M., Caprioli, R. A., Barros, C. S., Irigoyen, L. F., Figuera, R. A., Lovato, M., Kommers, G. D. 2014. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(3):224-232.
- Grooters, A. M. 2003. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33(4):695-720.
- Grooters, A. M., Foil, C. S. 2015. Infecções fúngicas diversas. In: Greene, C. E. *Doenças infecciosas em cães e gatos*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap.65, p. 709-723.
- Hensel, P., Greene, C. E., Medleau, L. 2003. Immunotherapy for treatment of multicentric cutaneous pythiosis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 223(2): 215-218.
- Hnilica, K. A. 2012. *Dermatologia de pequenos animais – altas colorido e guia terapêutico*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 608p.
- Hunning, P. S., Rigon, C. T., Pavarini, A., Sampaio, D. S., Beheregaray, W. K., Driemeier, D. 2010. Obstrução intestinal por *Pythium insidiosum* em um cão: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(4):801-805.
- Krajaejun, T., Sathapatayavongs, B., Pracharktam, R., Nitiyanant, P., Leelachaikul, P., Wanachawanawin, W., Chairpraset, A., Assanasen, P., Saiech, M., Mootsikapun, P., Chetchotsakd, P., Lekhakula, A., Mitarnun, W., Kalnauwaku, S., Supparatpinyo, K., Chaiwarith, R., Chiewchaint, S., Tananuvat, N., Srisiri, S., Suankratay, C., Kulwichit, W., Wongsaisuan, M., Somkaew, S. 2006. Clinical and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. *Clinical Infectious Diseases*, 43(5):569-576.
- Larsson, C. E., Men, M. C., Nahas, C. R. Pitiose canina – aspectos clínicos e epidemiológicos de caso em São Paulo. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 25, 1997, Gramado. *Anais...* Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997, p.155.
- Leal, A. B. M., Flores, E. F., Santurio, J. M. 2001. Pitiose. *Ciência Rural*, v. 31, n. 4, p. 735-743.
- Leblanc, C. J., Echandi, R. L., Moore, R. R., Souza, C., Grooters, A. M. 2008. Hypercalcemia associated with gastric pythiosis in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(1):115-12.
- Macêdo, L. B., Oliveira, I. V. P. M., Pimentel, M. M. L., Reis, P. F. C. C., Macedo, M. F., Filgueira, K. D. 2014. Primary description of pythiosis in autochthonous canine from the city of Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 8(4):88-109.
- Maciel, I. C. F., Silveira, J. T., Maia, C. A., Marcos, R., Sousa, N. J. F. O., Duarte, E. R. 2008. Pitiose fatal em equino tratado inicialmente para habronemose cutânea. *Acta Scientiarum Veterinariae*, 36(3):293-297.
- Maddison, J. E. 2010. *Farmacologia clínica de pequenos animais*. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 600p.

- Mari, C., Bassuino, D. M., Sonne, L. Pitiose Gástrica em um Cão. In: Congresso Medvop de Especialidades Veterinárias, 2013, Bento Gonçalves. *Anais...* Bento Gonçalves: Medvop.
- Maroneze, B. P., Botton, S. A., Mota, M. A., Lobo, R. R., Soares, M.P., Valente, J. S. S., Azevedo, M. I., Ribeiro, T. C., Sallis, E. S. V., Silveira, D. H., Stoll, F., Santurio, J. M., Pereira, D. I. B. 2012. Terapia combinada no tratamento da pitiose gastrointestinal em um canino. *Acta Scientiae Veterinariae*, 40(1), supl.1:36.
- Marques, S. A., Bagagli, E., Bosco, S. M. G., Camargo, R. M. P., Marques, M. E. A. 2006. *Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 81(5):483-485.
- Martins, T. B. 2010. *Morfologia comparada da pitiose em cavalos, cães e bovinos*. 104f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
- Mendoza, L., Arias, M., Colmenarez, V., Perazzo, Y. 2005. Intestinal canine pythiosis in Venezuela confirmed by serological and sequencing analysis. *Mycopathologia*, v. 159(2):219-222.
- Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L. 2013. *Muller & Kirk's - Small animal dermatology*. 7.ed. St. Louis: Elsevier, 938p.
- Nobre, M. O., Nascente, P. S., Meireles, M. C., Ferreira, L. 2002. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. *Ciência Rural*, 32(1):175-184.
- Nobrega, D. F., Silva-Junior, A. B., Caleffo, T., Teruya, C. S., Viott, A. L. 2013. Pitiose intestinal em cão – relato de caso. *Cães e Gatos*, 29(169):14-17.
- Nonnemacher, D. V. F., Pizoni, C., Corrêa, B. F., De Oliveira, M. P., Motta, M. A., Pereira, C. M., Schild, A. L., Sallis, E. S. V., Pereira, D. I. B. Pitiose cutânea e gastrointestinal em cão. In: Congresso de Iniciação Científica, 18, 2009, Pelotas. *Anais...* Pelotas: Universidade Federal de Pelotas.
- Paterson, S. 2010. *Manual de doenças da pele do cão e do gato*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 283p.
- Pereira, D. I. B., Schild, A. L., Motta, M. A., Figuera, R. A., Sallis, E. S. V., Marcolongo-Pereira, C. 2010. Cutaneous and gastrointestinal pythiosis in a dog in Brazil. *Veterinary Research Communications*, 34(3):301-306.
- Pesavento, P. A., Barr, B., Riggs, S. M., Eigenheer, A. L., Pamma, R., Walker, R. L. 2008. Cutaneous pythiosis in a Nestling white-faced ibis. *Veterinary Pathology*, 45(4):538-541.
- Pires, L., Bosco, S. D. M., Da Silva Junior, N. F., Kurachi, C. 2012. New approach to treat pythiosis: *in vitro* and *in vivo* assays with photodynamic therapy. *Veterinary Dermatology*, 23(2), supl. 1:14.
- Rakich, P. M., Grooters, A. M., Tang, K. 2005. Gastrointestinal pythiosis in two cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(3):262-269.
- Rech R. R., Graça D. L., Barros C. L. S. 2004. Pitiose em um cão: relato de caso e diagnósticos diferenciais. *Clínica Veterinária*, 9(50):68-72.
- Riet-Correa, F., Ferreira, J. L. M., Schild, A. L. 1998. Pitiose em canino. *Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico-UFPEL*. Pelotas: Universitária, 55 p.
- Rivierre, C., Laprie, C., Guiard-Marigny, O., Bergeaud, P., Berthelemy, M., Guillot, J. 2005. Pythiosis in Africa. *Emerging Infectious Diseases*, 11(3):479-48.
- Rodrigues, A., Graça, D. L., Fontoura, C., Cavalheiro, A. S., Henzel, A., Schwendler, S. E., Alves, S. H., Santurio, J. M. 2006. Intestinal dog pythiosis in Brazil. *Journal de Mycologie Médicale*, 16(1):37-41.
- Santana, C. C., Abreu, J. M. G., Uchôa, P. G., Pinheiro, A. Q. Pitiose cutânea em equinos na região metropolitana de Fortaleza. In: Encontro de Iniciação Científica, 16, 2007, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará.
- Santurio, J. M., Alves, S. H., Pereira, D. B., Argenta, J. 2006. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*, 34(1):1-14.
- Stragliotto, A., Pires, M. A. M., Presser, C. I., Guimarães, D. Enterite granulomatosa por *Pythium insidiosum* em cão. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 38, 2011, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: Sociedade Catarinense de Medicina Veterinária.
- Taboada, J., Grooters, A. M. 2010. Infectious disease – histoplasmosis, blastomycosis, sporotrichosis, candidiasis, pythiosis and lagenidiosis. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. *Textbook of veterinary internal medicine*. 7.ed. St Louis: Elsevier, Cap.217, p. 971-988.
- Tabosa, I. M., Medeiros, V. T., Dantas, A. F., Azevedo, E. O., Maia, J. C. 1999. Pitiose cutânea em equídeos no semiárido da Paraíba. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51(1):27-30.
- Tabosa, I. M., Riet-Correa, F., Nobre, V. M. T., Azevedo, E. O., Reis-Junior, J. L., Medeiros, R. M. T. 2004. Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in Northeastern Brazil. *Veterinary Pathology*, 41(4), p. 412-415.
- Tams, T. R. 2005. *Gastroenterologia de pequenos animais*. São Paulo: Roca. 454p.
- Tôrres, L. M., Dantas, A. K. F. P., Araújo, K. N., Silva, J. K. C., Mendes, R. S. 2013. Pitiose cutânea em um cão – relato de caso. *Acta Veterinaria Brasilica*, 7, supl. 1:195-196.
- Torres, L. M., Dantas, A. K. F. P., Silva, J. K. C., Araújo, K. N., Garino-Junior, F., Mendes, R.S. 2014. Pitiose cutânea canina – relato de caso. *ARS Veterinaria*, 30(2):77-82.
- Torres-Neto, R., Bosco, D. M., Amorim, R. L., Brandao, C. V., Fabris, V. E., Estanislau, C., Bagagli, E. 2010. Cutaneous pythiosis in a dog from Brazil. *Veterinary Dermatology*, 21(2):202-204.
- Trost, M. E., Gabriel, A. L., Masuda, E. K., Figuera, R. A., Irigoyen, L. F., Kommers, G. D. 2009. Aspectos clínicos, morfológicos e imunoistoquímicos da pitiose gastrintestinal canina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(8):673-679.
- Viana, L. F. S., Junior, R. L. V., Santos, I. A. S., Silva, I. F., Barreto, J. O., Carvalho, C. C. C., Melo, I. L. L., Silva, E. B., Costa, S. C. L., Clark, R. O., Figueiredo, M. A. F. Primeiro caso de pitiose confirmado por ELISA em equino no sul da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 39, 2012, Santos. *Anais...* Santos: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária.
- Vieira, F. V., Gallo, G., Pádua, T. F. G., Roza, D. B., Laranjeira, M. G.; Eugênio, F. R. Pitiose intestinal em cão – relato de caso. In: Congresso Brasileiro da Anclivepa, 36, 2015, Porto Seguro. *Anais...* Porto Seguro: Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais – Bahia.