

Comunicado 34

Técnico

ISSN 1517-4875
Maio, 2004
Corumbá, MS



Ferida da Moda: Epidemiologia, Diagnóstico, Tratamento e Experiência com Eqüinos Infectados no Pantanal

Jânia Morais Santurio¹

João Batista Catto²

José Aníbal Comastri Filho⁵

Alexandre T. Leal³

Adriana B. M. Leal⁴

Introdução

A pitiose é uma doença granulomatosa que atinge eqüinos, caninos, bovinos, felinos e humanos e ocorre em áreas tropicais, subtropicais ou temperadas (Meireles et al., 1993; Mendoza et al., 1996), causada pelo omiceto *Pythium insidiosum* (De Cock et al., 1987). A espécie eqüínea é a mais atingida, principalmente nas formas cutânea e subcutânea, seguida dos caninos (Mendoza et al., 1996). A enfermidade em eqüinos caracteriza-se pela formação de granulomas eosinofílicos, com a presença de massas necróticas chamadas de *kunkers* (Mendoza e Alfaro, 1986; Meireles et al., 1993). Em humanos, a doença é mais comum no sudeste asiático, caracterizando-se por formas sistêmicas com arterites e também formas oftálmicas e subcutâneas, sendo as duas últimas associadas a α e β -talassemias (Imwidthaya, 1994; Imwidthaya, 1995).

Vários tratamentos têm sido utilizados, principalmente em eqüinos, incluindo tratamento químico (antifúngicos), cirúrgico e imunoterápico. A imunoterapia, proposta inicialmente por Miller (1981), surgiu como uma alternativa concreta para o controle da doença e tem apresentado resultados promissores (Monteiro, 1999).

. *Pythium insidiosum*

O gênero *Pythium* pertence ao filo *Oomycota*, cujos membros caracterizam-se por: 1. produção de zoospores biflagelados (rep. assexuada); 2. reprodução sexuada oogâmica; 3. parede celular composta de β -glucanos, celulose e hidroxipolina; 4. talo diplóide; 5. mitocôndria com crista tubular; 6. características moleculares e bioquímicas próprias, como uma rota alternativa para síntese de lisina (Moore-Landecker, 1996; Alexopoulos et al., 1996). Esse gênero possui mais de 120 espécies, sendo a maioria habitantes do solo e patógenos de plantas, especialmente a doença *damping-off*, que causa prejuízos na agricultura. Algumas espécies têm sido estudadas para utilização como controle biológico (de outros fungos e larvas de mosquitos), enquanto apenas o *P. insidiosum* é conhecido como patógeno de mamíferos e plantas. A identificação das espécies de *Pythium* baseia-se nas características morfológicas dos zoosporângios, zoospores, oogônias e anterídios, além de técnicas moleculares como Nested polymerase chain reactioon assay (PCR) (Alexopoulos et al., 1996; Moore-Landecker, 1996; Grooters e Gee, 2002).

¹ Méd-Vet., Prof. Titular, Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), UFSM , CEP 97105-900, Santa Maria, RS, santurio@smail.ufsm.br

² Méd-Vet., PhD, Embrapa Gado de Corte, BR 262 Km 4 Saída para Aquidauana, Caixa Postal 154/155, CEP 79106-000 - Campo Grande, MS, catto@cnpq.embrapa.br

⁵ Eng.Agro., MSc, Embrapa Pantanal, Rua 21 de setembro, 1880, Caixa Postal 109, CEP 79320-900 - Corumbá, MS, comastri@cpap.embrapa.br

³ Méd-Vet., MSc, Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), UFSM, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, atleal@dna.cbio.ufrgs.br

⁴ Méd-Vet., MSc, Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), UFSM, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, abmleal@bol.com.br

Epidemiologia

A pitiose ocorre em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, tendo sido descrita nas Américas, alguns países europeus e sudeste asiático (Chaffin et al., 1995; Foil, 1996; Mendoza et al., 1996). Não há predisposição por sexo, idade ou raça, e a fonte de infecção são os zoosporos ambientais, não havendo relatos de transmissão direta entre animais e entre animais e o homem (Mendoza et al., 1996).

As condições ambientais são fundamentais para o desenvolvimento do organismo. Para a produção de zoosporos são necessárias temperaturas entre 30 e 40°C e o acúmulo de água em banhados e lagoas (Miller e Campbell, 1982a). A grande maioria dos casos de pitiose é observada durante ou após a estação chuvosa. Baseados nos dados epidemiológicos acredita-se na existência de um período de incubação de várias semanas. No Pantanal Sul-Mato-Grossense, a maioria dos casos de pitiose eqüina é registrada entre os meses de fevereiro e maio (verão-outono), período que corresponde ao ápice das cheias. A maioria dos 38 casos de pitiose observados por Tabosa et al. (1999), na Paraíba, foram registrados nos meses de julho a outubro, sete a dez meses após o início das chuvas.

Em 1983, Miller propôs um ciclo ecológico para descrever o comportamento ambiental e a cadeia infecciosa desse fungo zoospórico. O ciclo baseia-se na colonização de plantas aquáticas, que servem de substrato para o desenvolvimento e reprodução do organismo, dando origem aos zoosporângios. Os zoosporos livres na água, movimentam-se até encontrar outra planta (ou animal), onde se encistam e emitem o tubo germinativo, dando origem a um novo micélio e completando o seu ciclo. Análises *in vitro* demonstraram a quimiotaxia dos zoosporos por pêlos e por tecidos animais e vegetais, atribuída a substâncias presentes nesses tecidos. Uma substância amorfa é liberada pelo zoosporo após o seu encistamento, provavelmente em resposta ao fator quimiotáxico do hospedeiro. Essa substância atuaria como um adesivo para fixar o zoosporo à superfície do hospedeiro e permitir a formação de tubo germinativo (Mendoza et al., 1993). Essas observações sustentaram a teoria de infecção, sugerindo que os eqüinos em contato com águas contaminadas poderiam atrair os zoosporos, os quais germinariam a partir de uma pequena lesão cutânea (Miller, 1983; Mendoza et al., 1993). Outros autores sugeriram a possibilidade de penetração dos zoosporos através dos folículos pilosos, baseados na detecção de hifas no interior do folículo de bovinos infectados naturalmente e no fato do quimiotaxismo ser mais ativo na região do pelo encontrada dentro do folículo piloso (Santurio et al., 1998). Essa observação pode questionar a necessidade de lesão na pele para que ocorra a germinação dos zoosporos. Além disso, diferenças individuais de suscetibilidade, ao exemplo do que ocorre em humanos (talassemia), parecem ocorrer também em eqüinos.

No Brasil, a pitiose já foi descrita em eqüinos, bovinos e caninos. A maioria dos casos corresponde a lesões cutâneas em eqüinos. O primeiro relato ocorreu no Rio Grande do Sul, por Santos e Londro (1974). Os relatos de pitiose eqüina no Brasil somam mais de 90 casos e têm sido descritos em vários estados como Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco e São Paulo (Carvalho et al., 1984; Santos et al., 1987; Meireles et al., 1993; Tury e Corôa, 1997; Tabosa et al., 1999). Além dos casos publicados, relatos informais de médicos veterinários indicam a presença da doença em vários estados brasileiros. O Pantanal brasileiro é provavelmente o local de maior ocorrência de pitiose eqüina do mundo (Mendoza et al., 1996). O Pantanal é uma planície inundável de aproximadamente 140.000 km² e possui em torno de 140.000 eqüinos (Silva et al., 1995). Embora não existam dados precisos da ocorrência no Brasil, os dados disponíveis indicam que a pitiose representa um problema à criação de eqüinos, especialmente em regiões alagadiças.

Pitiose nos eqüinos

A doença possui diferentes denominações, como "swamp cancer", zigomicose, dermatite granular, "bursattee", "Florida leeches", granuloma ficomictólico e hifomicose (Chaffin et al., 1995; Foil, 1996). Nos estados de MT e MS o nome popular mais conhecido é "ferida da moda". O termo hifomicose inclui outras doenças causadas por fungos, especialmente *Conidiobolus ranarum* e *Basidiobolus haptosporum*, além de membros da ordem **Mucorales** (Brown e Roberts, 1988).

As lesões cutâneas são as mais freqüentes e atingem principalmente as extremidades distais dos membros e porção ventral da parede toraco-abdominal, provavelmente devido ao contato com águas contaminadas com zoosporos (Chaffin et al., 1995; Foil, 1996). A enfermidade caracteriza-se por lesões ulcerativas granulomatosas, formando grandes massas teciduais (5 a 500 mm), com bordas irregulares e com hifas recobertas por células necróticas, que formam massas branco-amareladas que lembram coral, chamadas de kunkers. Essas massas variam de 2 a 10 mm de diâmetro, tem forma irregular, ramificada, com aspecto arenoso e penetram no tecido granular, dentro de *sinus* formados ao longo do seu trajeto. O tamanho das lesões depende do local e duração da infecção, com presença de secreção serosanguinolenta, mucosanguinolenta, hemorrágica e às vezes mucopurulenta fluindo através dos "sinus" da lesão. Os animais apresentam intenso prurido e geralmente mutilam a lesão na tentativa de aliviar o desconforto. Claudicação é freqüente em animais afetados nos membros (Meireles et al., 1993; Chaffin et al., 1995). A maioria dos casos descritos relata apenas uma lesão em cada animal, porém lesões cutâneas multifocais também tem sido relatadas (Miller e Campbell, 1982a; Chaffin et al., 1992).

Histologicamente, a pitiose caracteriza-se por inflamação granulomatosa e granulocítica, enquanto os *kunkers* apresentam-se como coágulos eosinofílicos, compostos de hifas, colágeno, arteríolas e células inflamatórias, especialmente eosinófilos. A área em torno do coágulo é composta por um exsudato inflamatório espesso de neutrófilos e eosinófilos. Em cortes histológicos corados com coloração especial de prata, pode-se observar as hifas com paredes espessas, esparsamente septadas, irregularmente ramificadas (normalmente em ângulo reto) e medindo de 2 a 6 µm de diâmetro (Miller e Campbell, 1984; Brown et al., 1988; Chaffin et al., 1995).

A pitiose intestinal é a segunda forma mais freqüente da infecção em eqüinos. Os casos descritos cursaram com episódios de cólica, causadas pela presença de massas teciduais, levando a redução e/ou obstrução do lúmen intestinal. Os achados de necrópsia e excisão cirúrgica revelaram ulceração intestinal e massas nodulares de até 20cm de diâmetro na parede do jejuno. Os achados histopatológicos variaram de tecido conjuntivo fibroso com áreas de necrose de coagulação e focos de mineralização (sem infiltrado eosinofílico) à granuloma eosinofílico crônico, porém sem a observação de *kunkers* (Allison e Gillis, 1990; Morton et al., 1991; Purcell et al., 1994).

Outros tecidos também podem ser atingidos secundariamente às lesões cutâneas, incluindo lesões ósseas adjacentes à lesão primária. As lesões ósseas caracterizam-se por exostoses, osteólises e osteomielite no exame radiológico e presença de granulomas eosinofílicos com áreas de necrose e massas necróticas contendo hifas no exame histopatológico (Alfaro e Mendoza, 1990; Eaton, 1993).

Casos de metástase via linfática para os pulmões e linfonodos regionais (cervicais inferiores, inguinais e submandibulares) já foram relatados (Murray et al., 1978; Goad, 1984; Leal et al., 1997). Os linfonodos atingidos apresentavam *kunkers*, dos quais foi possível o isolamento do agente etiológico. Na maioria dos casos de pitiose cutânea, os linfonodos regionais encontram-se aumentados de volume, porém isso nem sempre indica metástase. Em um estudo de Miller e Campbell (1984), foram examinados os linfonodos de 15 eqüinos com pitiose e todos apresentaram-se aumentados e edematosos, porém em apenas três animais foi detectada metástase no linfonodo inguinal.

Imunoterapia

A patogenia e a resposta imunológica ao *P. insidiosum* ainda são pouco conhecidas. O caráter progressivo da doença em eqüinos imunocompetentes sugere uma resposta imunológica inadequada ou um bloqueio na resposta imunológica (Miller, 1981). Esse autor acredita que mesmo sendo antigênicas, as hifas não são completamente reconhecidas pelo hospedeiro, devido à marcante reação inflamatória. Em 1996,

Mendoza et al. propuseram o possível mecanismo imunológico desencadeado na pitiose eqüina. No início da infecção, o *P. insidiosum* liberaria抗原os solúveis que estimulariam a produção de IgE. Essas imunoglobulinas ligariam-se à superfície das hifas e ativariam os mastócitos, que liberariam seus fatores quimiotáticos para atrair eosinófilos para o sítio da infecção. Os eosinófilos ligariam-se na porção Fc das IgE na superfície das hifas e eventualmente degranulariam, protegendo a hifa do sistema imune. O mecanismo proposto seria semelhante ao relatado nas infecções parasitárias. Segundo os autores, há evidências da presença de抗原os solúveis dispersos na lesão e não apenas no interior dos *kunkers*.

Uma alternativa para o tratamento da pitiose eqüina foi proposto por Miller, em 1981, que desenvolveu um imunobiológico (imunoterápico) a partir de culturas do próprio agente (hifas sonicadas). O índice de eficiência obtido na imunoterapia foi de 53%; e 75% quando associado à cirurgia (Miller, 1981; Miller e Campbell, 1982a).

Nas décadas de 80 e 90 vários autores utilizaram a imunoterapia. Mendoza e Alfaro (1986) utilizaram o sobrenadante das culturas como抗原e obtiveram recuperação de 3 entre 5 animais tratados. Mendoza et al. (1992a), compararam vacinas produzidas com massa celular e com抗原solúvel concentrado, em 71 eqüinos afetados, obtendo 60% e 70% de cura, respectivamente. Thitithanyanont et al. (1998) descreveram a utilização com sucesso de um imunoterápico no tratamento de pitiose em um menino talassêmico de 14 anos de idade. Dykstra et al. (1999) relataram o fracasso de várias opções terapêuticas contra a pitiose cutânea canina, incluindo uma vacina autógena produzida a partir de tecido com hifas de um cão com pitiose cutânea.

As explicações para a cura induzida pela imunoterapia são apenas teóricas, baseadas nas características clínicas, histopatológicas e sorológicas da infecção e seu tratamento. Acredita-se que os抗原os citoplasmáticos expostos ao sistema imune via vacinação originariam uma resposta humorale e celular capaz de combater a infecção natural. A resposta humorale pode ser demonstrada pelos testes de imunodifusão e Western immunoblot, enquanto a resposta celular pode ser evidenciada pelo teste de hipersensibilidade intradérmica e alteração no infiltrado inflamatório (Mendoza et al., 1996). Segundo Mendoza et al. (1992b) o soro de eqüinos infectados, testado pelo immunoblot, reagiu contra três proteínas (28, 30 e 32 kDa) imunodominantes e amostras de soro eqüino, obtidas um ano após a cura pela imunoterapia, também apresentaram anticorpos contra esses três抗原os.

Estudos recentes com Western immunoblot sugerem a presença de cinco抗原os imunodominantes no *P. insidiosum* e avaliação de soro eqüino pré e pós-tratamento (com imunoterápico) não revelou alterações no perfil de IgG durante a imunoterapia.

Isso questiona sobre a real importância desses抗ígenos na cura dos animais (Leal, 1999).

Miller (1981) propôs dois modelos para explicar a ação dos anticorpos. O primeiro seria através de um mecanismo de citotoxicidade dependente de anticorpo e mediado por células, que envolveria linfócitos, macrófagos e talvez eosinófilos ligados a anticorpos, sobretudo IgG. O segundo modelo proposto envolveria anticorpos e o sistema complemento. Os anticorpos específicos estimulados pela vacina ativariam o sistema complemento, danificando a parede celular e promovendo a lise do agente. Mendoza et al. (1996) acreditam que os mecanismos envolvidos na cura pela imunoterapia, baseiam-se principalmente na resposta celular. Isto é sustentado pelas alterações teciduais após início da imunoterapia, com mudança de inflamação eosinofílica no início para uma resposta mononuclear, mediada por macrófagos e linfócitos T. Os autores acreditam que os抗ígenos presentes no imunógeno induziriam esta alteração no padrão inflamatório, culminando com a cura dos animais. Entretanto, Newton e Ross (1993) verificaram que o nível de anticorpos anti-*Pythium* aumenta em eqüinos doentes submetidos à imunoterapia. De acordo com os autores, o aumento do nível de anticorpos auxiliaria na cura.

Diagnóstico

Tradicionalmente, o diagnóstico da pitiose baseava-se nas características clínicas, histopatológicas e no isolamento e identificação do agente através de suas características culturais, morfológicas e reprodutivas. A identificação precoce da doença, no entanto, torna-se difícil através desses métodos. O diagnóstico diferencial inclui habronemose, neoplasia, tecido de granulação exuberante e granulomas fúngicos ou bacterianos (Chaffin et al., 1992). Atualmente, métodos como imunohistoquímica e técnicas sorológicas auxiliam e suportam um diagnóstico precoce e correto (Mendoza et al., 1996). Em 1988, Brown et al., descreveram pela primeira vez o método de imunohistoquímica para diagnóstico da pitiose eqüina, que foi posteriormente utilizado por vários autores (Howerth et al., 1989; Fischer et al., 1994; Purcell et al., 1994).

A utilização de técnicas sorológicas foi impulsionada por Miller e Campbell (1982b), que desenvolveram as técnicas de imunodifusão em gel de ágar (ID), fixação do complemento (FC) e hipersensibilidade intradérmbica (TI), para o diagnóstico e monitoramento da resposta imunológica em eqüinos afetados. Os testes realizados em eqüinos com pitiose clínica, demonstraram que a ID apresenta alta sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos anti-*P. insidiosum* (Miller e Campbell, 1982b).

Kaufman et al. (1990) demonstraram a eficiência da ID para o soro-diagnóstico e diagnóstico diferencial das entomoftoromicoses causadas por *Basidiobolus*

ranarium e *Conidiobolus coronatus* em humanos e animais, assim como para pitiose.

Mendoza et al. (1997) desenvolveram um teste de ELISA para o soro-diagnóstico de pitiose em humanos e animais, utilizando antígeno solúvel de hifas sonicadas. Os resultados indicaram que o ELISA é eficiente para o diagnóstico da pitiose, e possui especificidade semelhante à ID, porém com maior sensibilidade. No Brasil, Rosa et al. (1999) desenvolveram um teste de ELISA para diagnóstico da pitiose eqüina, enquanto Pinto et al. (1999) descreveram a padronização de teste ELISA para detecção de IgG em coelhos imunizados com抗ígenos de *P. insidiosum*.

Um teste de dot-blot modificado foi desenvolvido para detecção de IgG anti-pythium em coelhos e eqüinos. A técnica desenvolvida utilizou sistema de luminescência química para visualização da reação. No entanto, a técnica pode ser adaptada para um sistema de visualização direta na membrana, podendo ser utilizada como um teste de campo, possuindo boa especificidade, sensibilidade, praticidade e baixo custo (Lübeck et al., 1999).

Tratamento

O tratamento de infecções pelo *P. insidiosum* em animais e humanos é complicado pelas características do agente, sobretudo sua composição de parede celular. Os fungos verdadeiros possuem quitina em sua parede, enquanto o *Pythium* contém celulose e β-glucanos. A membrana plasmática não contém esteróides, como o ergosterol, que é o componente-alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas (Foil, 1996). Devido à essas características, as drogas antifúngicas tradicionais são ineficientes contra o *P. insidiosum* (Sathapatayavongs et al., 1989; Foil, 1996). No tratamento químico, as drogas mais utilizadas até o momento foram a anfotericina B, cetoconazole, miconazole, fluconazole e itraconazole, além dos compostos iodínicos como iodeto de potássio e sódio.

O sucesso das outras formas de tratamento é variável, sendo influenciado pelo tamanho e duração da lesão, idade e estado nutricional do animal. O tratamento tradicional da pitiose eqüina é o cirúrgico, requerendo a excisão de toda área afetada. No entanto, isso é dificultado pelas estruturas anatômicas envolvidas, principalmente nos membros (Miller, 1981). Em geral, o tratamento cirúrgico apresenta bons resultados apenas em lesões pequenas e superficiais, onde seja possível a retirada de toda área afetada. McMullan et al. (1977) obtiveram 50% de eficiência associando a remoção cirúrgica e anfotericina B; 30% apenas com anfotericina B e 20% das ficomicoses subcutâneas não responderam aos tratamentos. Sedrish et al. (1997) relataram o sucesso do uso de raio laser vermelho de alumínio, neodímio e ítrio como

tratamento suplementar após a remoção cirúrgica de lesões de pitiose eqüina.

Segundo Gonzales et al. (1979), as ficomicoses subcutâneas respondem ao iodeto de potássio associado a cirurgia ou isoladamente, porém o iodeto de potássio é mais eficiente quando utilizado após a extirpação cirúrgica do granuloma. Chaffin et al. (1992) também relataram o sucesso do tratamento cirúrgico seguido de iodeto de sódio em pitiose cutânea. Entretanto, Meireles et al. (1993) não obtiveram sucesso em dois eqüinos tratados com iodeto de potássio endovenoso associado à cirurgia.

Os resultados obtidos com as drogas antifúngicas têm sido variáveis, tanto *in vitro* como *in vivo*. Em um estudo de Sekhon et al. (1992), os poliénicos (anfotericina B, hamycin) não apresentaram atividade

satisfatória, enquanto os azólicos fluconazole, cetoconazole e miconazole inibiram o crescimento *in vitro* de isolados de *P. insidiosum*. Em outro teste, as drogas anfotericina B, flucitosina, miconazole e griseofulvina não inibiram o crescimento do fungo, enquanto o itraconazole apresentou atividade moderada e a terbinafina foi ativa contra o *P. insidiosum* (Shenep et al., 1998). Nesse estudo, a associação de terbinafina e itraconazole apresentou efeito sinérgico e foram utilizadas com sucesso no tratamento de um menino com infecção facial. Triscott et al. (1993) descreveram o sucesso da anfotericina B no tratamento de dois casos de infecção periorbital em humanos, contrariando os resultados obtidos nos testes *in vitro*.

Experiência no Pantanal

Experimentos a campo foram iniciados em 1996 através de convênio da Embrapa Pantanal e Universidade Federal de Santa Maria para testar um imunobiológico em eqüinos infectados naturalmente pelo *Pythium insidiosum*. O imunobiológico foi produzido no Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, a partir de culturas fúngicas do agente, onde as hifas foram maceradas e liofilizadas. O experimento foi realizado na Fazenda Nhumirim, na região da Nhecolândia, onde 19 eqüinos sem raça definida, de ambos os sexos e idades entre um e oito anos, foram agrupados por um período de 4 meses. Neste período os animais foram monitorados diariamente no qual era realizada avaliação diária das lesões, coleta de sangue para confecção de hemogramas e coleta de soro. Os animais eram oriundos de fazendas da região do Pantanal da Nhecolândia (Corumbá, MS) e

apresentavam lesões cutâneas suspeitas de pitiose. As lesões se caracterizavam pela presença de tumorações cutâneas ou subcutâneas localizadas nos membros, na face e na porção ventral da parede toraco-abdominal (**Fig. 1**). As doses do medicamento foram administradas a cada 14 dias via subcutânea na porção cervical lateral (tábuia do pescoço). Os animais foram divididos em dois grupos (I e II), de acordo com as características clínicas e o tempo de duração das lesões. No grupo I foram incluídos 13 animais com duração da doença entre 1 e 6 meses. Esses animais apresentaram lesões subcutâneas de evolução progressiva, abundante tecido de granulação, ulceração, secreção serossanguinolenta e presença de *kunkers*. Os animais foram tratados até a cura total, ou seja, a presença de cicatriz (**Fig. 2**). O número médio de doses por animal foi de 5 doses obtendo-se 53% de cura dos mesmos.



Fig. 1. Eqüinos com lesões graves de pitiose nas região torácica, pata e face.



Fig. 2. Eqüinos curados de pitiose na pata, região torácica e face após o uso do imunoterápico PitiumVac.

No grupo II, foram incluídos seis eqüinos com duração da doença superior a 12 meses e quadro clínico estável, incluindo bom estado nutricional. As lesões subcutâneas caracterizavam-se por grandes massas teciduais recobertas por pele hiperpigmentada, eventualmente com pelos, sem ulcerações e presença de alguns pontos abertos (sinus) com a drenagem de pouca secreção e fragmentos de *kunkers*. O número médio de doses administradas a esses animais foi superior ao de grupo I (6,16/ por animal), onde se obteve 83% de cura. Neste experimento foi obtido 63% de cura dos animais com uma média de 5,33 doses (Monteiro, 1999).

A avaliação leucocitária dos animais não demonstrou diferença significativa estatisticamente entre eles sendo observado uma leucocitose por neutrofilia em ambos (Monteiro, 1999).

Em 2001, foi realizado um novo experimento na Fazenda Nhumirim com 16 eqüinos com lesões de pitiose confirmada através de testes sorológicos (ELISA), histopatologia e isolamento do agente. Os animais foram divididos em dois grupos no qual o grupo I recebeu o imunoterápico Pitium Vac e o grupo II recebeu placebo por um período de 4 meses com intervalo de 14 dias. Todos os animais que receberam placebo (5 animais) foram a óbito e dos animais do grupo I, com onze eqüinos, sete responderam a ação do Pitium Vac, obtendo-se 63,6% de eficiência.

Alguns animais não respondem ao tratamento indo a óbito, talvez alguns eqüinos sejam anérigos ou devido à grande contaminação bacteriana morram por septicemia ou pela liberação de fatores de necrose tumoral (FNT α) que induzem à lipólise, promovendo os fenômenos de caquexia, emagrecimento progressivo e morte.

Pitiose em bovinos

A pitiose bovina é pouco freqüente, havendo apenas dois relatos na literatura. O primeiro nos EUA (Miller et al., 1985) e o segundo no Pantanal Sul-Mato-Grossense (Santurio et al., 1998).

Em 1996, foi diagnosticada pitiose em dois bovinos com idades de 8 meses, um macho e uma fêmea, que apresentavam lesões ulceradas nos membros. As lesões apresentavam áreas amarelas localizadas na derme e estruturas de *kunkers* era ausente. Foi realizada biópsia de ambas as lesões para isolamento do agente e histopatologia. Em meio de cultura de Agar sabouraud houve o crescimento de colônias hialinas e a visualização em microscopia observou-se hifas não septadas compatíveis com *Pithium insidiosum*. Na histopatologia foi observada a presença de neutrófilos e eosinófilos circundando o granuloma e um pequeno numero de hifas. Alguns folículos estavam dilatados por células inflamatórias e também pela presença de hifas. Incrustação granular ao redor de porções de hifas, sugestiva de deposição de complexos antígeno-anticorpo, foi observada nos casos descritos por Miller et al. (1985). Os bovinos do Pantanal apresentaram cura espontânea dentro de um mês, após a retirada dos animais do alagado (Santurio et al., 1998).

Pitiose experimental

Até o presente, não foi possível reproduzir a enfermidade experimentalmente nas espécies infectadas naturalmente. No entanto, Miller e Campbell (1983) demonstraram a eficiência de coelhos como modelo experimental para a pitiose. Inoculação subcutânea de água rica em zoosporos produziu nódulos que evoluíram para fibrogranulomas eosinofílicos. Os coelhos inoculados por via intra-peritoneal desenvolveram hepatite severa e peritonite, com áreas de necrose contendo hifas, reação granulomatosa com infiltrado de neutrófilos e eosinófilos. Leal et al. (2001) realizaram inoculação de zoósporos em coelhos, via subcutânea, e houve a produção de granulomas semelhantes aos de eqüinos, porém não havendo a presença de *kunkers*.

Pespectivas para o controle da pitiose

O estudo das infecções fúngicas tem sido impulsionado pelo aumento de incidência dessas infecções, associada à grande incidência de pacientes imunocomprometidos (AIDS, leucemias, transplantados). Porém, os aspectos imunológicos e o uso de imunoterápicos no tratamento dessas micoses ainda são pouco explorados. Apesar das estudos recentes sobre a pitiose, ainda desconhece-se os mecanismos envolvidos na patogenia e na resposta imunológica do hospedeiro. Nesse sentido, o desenvolvimento de técnicas mais eficientes para o diagnóstico e monitoramento da resposta imunológica tem permitido avanços no conhecimento da resposta imunológica e o desenvolvimento de imunoterápicos para o tratamento da doença. Em especial, a imunoterapia representa uma proposta promissora para o tratamento da doença e justifica estudos mais aprofundados para confirmar seu potencial.

Referências Bibliográficas

- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, Cap. 23: Phylum Oomycota: p. 683-737. 1996.
- ALFARO, A.A.; MENDOZA, L. Four cases of equine bone lesions caused by *Pythium insidiosum*. **Equine Vet. J.**, v. 22, n. 4, p. 295-297, 1990.
- ALLISON, N.; GILLIS, J.P. Enteric pythiosis in a horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 196, n. 3, p. 462-464, 1990.
- BROWN, C.C.; ROBERTS, E.D. Intestinal pythiosis in a horse. **Aust. Vet. J.**, v. 65, n. 3, p. 88-89, 1988.
- BROWN, C.C.; McCLURE, J.J.; TRICHE, P. Use of immunohistochemical methods for diagnosis of equine pythiosis. **Am. J. Vet. Res.**, v.49, n.11, p.1866-1868, 1988.

- CARVALHO, E.C.Q.; ROSA, C.A.R.; CRUZ, L.C.H. "Hyphomyces destruens" Agente da "Ferida Brava" (Hifomicose) em equinos do Pantanal de MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, 1984, Cuiabá, MT. **Anais...**, Cuiabá: Sociedade de Veterinária do Mato Grosso, 1984. p. 311.
- CHAFFIN, M.K.; SCHUMACHER, J.; HOOPER, N. Multicentric cutaneous pythiosis in a foal. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.201, n.2, p.310-312, 1992.
- CHAFFIN, M.K.; SCHUMACHER, J.; McMULLAN, W.C. Cutaneous pythiosis in the horse. **Vet. Clin. North Am: Equine Pract.**, v. 11, n. 1, p. 91-103, 1995.
- DE COCK, A.W.A.M.; MENDOZA, L.; PADHYE, A.A. *Pythium insidiosum* sp. Nov., the etiologic agent of pythiosis. **J Clin Microbiol**, v. 25, n. 2, p. 344-349, 1987.
- DYKSTRA, M.J.; SHARP, N.J.; OLIVRY, T. A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs. **Med. Mycol.**, v.37, n.6, p.427-433, 1999.
- EATON, S.A. Osseous involvement by *Pythium insidiosum*. **Compend Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 15, p. 485-490, 1993.
- FISCHER, J.R.; PACE, L.W.; TURK, J.R. Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.6, p.380-382, 1994.
- FOIL, C.S. Update on pythiosis (Oomycosis). In: THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 1996, Orlando. **Proceedings...**, Orlando: Bayer Animal Health, 1996, p.57-63.
- GOAD, M.E.P. Pulmonary pythiosis in a horse. **Vet. Pathol.**, v.21, p.261-262, 1984.
- GONZÁLES, H.E.; TRHEEBILCOK, E.; MONTAÑO, J. Tratamiento de la ficomicosis equina subcutánea empleando yoduro de potasio. **Rev. ICA**, v.XIV, n.2, p.115-121, 1979.
- GROOTERS, A.M.; GEE, M.K. Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection and identification of *Pythium insidiosum*. **J. Vet. Intern Med.** v.16, p.147-152, 2002.
- HOWERTH, E.W.; BROWN, C.C.; CROWDER, C. Subcutaneous pythiosis in a dog. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.1, p.81-83, 1989.
- IMWIDTHAYA, P. Human pythiosis in Thailand. **Postgrad Med J**, v.70, p.558-560, 1994.
- IMWIDTHAYA, P. Mycotic keratitis in Thailand. **J. Med. Vet. Mycol.**, v.33, p.81-82, 1995.
- KAUFMAN, L.; MENDOZA, L.; STANDARD, P.G. Immunodiffusion test for serodiagnosing subcutaneous zygomycosis. **J. Clin. Microbiol.**, v.28, n.9, p.1887-1890, 1990.
- LEAL, A.T.; SANTURIO, J.M.; MONTEIRO, A.B. Pitiose eqüina com envolvimento de linfonodos. In: JORNADA DE PESQUISA, EXTENSÃO E ENSINO, 4, 1997, Santa Maria. **Anais ...**, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1997, p.729.
- LEAL, A.T. *Pythium insidiosum*: caracterização antigênica preliminar e avaliação de adjuvantes na indução de resposta sorológica em coelhos. Santa Maria, 1999. 94 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1999.
- LEAL, A.B.M.; GRIEBELER, J.; LEAL, A.T. Zoosporogênese de *Pythium insidiosum*. In: III Congresso Brasileiro de Micologia, **Anais...** Aguas de Lindóia, 2001, p.124.
- LÜBECK, I.; FLORES, E.F.; LEAL, A.B.M. Desenvolvimento de um teste de Dot-blot modificado. In: JORNADA ACADÉMICA INTEGRADA, 14, 1999, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1999, p.609.
- MCMULLAN, W.C.; JOYCE, J.R.; HANSELKA, D.V. Amphotericin B for the treatment of Localized subcutaneous phycomycosis in the horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.170, p.1293-1297, 1977.
- MEIRELES, M.C.A.; RIET-CORREA, F.; FISCHMAN, O. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. **Mycoses**, v.36, p.139-142, 1993.
- MENDOZA, L.; ALFARO, A.A. Equine pythiosis in Costa Rica: Report of 39 cases. **Mycopathologia**, v.94, p.123-129, 1986.
- MENDOZA, L.; AJELLO, L.; McGINNIS, M.R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **J. Mycol. Med.**, v.6, n.4, p.151-164, 1996.
- MENDOZA, L.; HERNANDEZ, F.; AJELLO, L. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. **J. Clin. Microbiol.**, v.31, n.11, p.2967-2973, 1993.
- MENDOZA, L.; KAUFMAN, L.; MANDY, W. Serodiagnosis of human and animal pythiosis using a enzyme-linked immunosorbent assay. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 4, n.6, p. 715-718, 1997.
- MENDOZA, L.; VILLALOBOS, J.; CALLEJA, C.E. Evaluation of two vaccines for the treatment of pythiosis insidiosi in horses. **Mycopathologia**, v. 119, p. 89-95, 1992a.
- MENDOZA, L.; NICHOLSON, V.; PRESCOTT, J.F. Immunoblot analysis of the humoral immune response to *Pythium insidiosum* in horses with pythiosis. **J. Clin. Microbiol.**, v.30, n.11, p.2980-2983, 1992b.
- MILLER, R.I. Treatment of equine phycomycosis by immunotherapy and surgery. **Aust. Vet. J.**, v.57, p.377-382, 1981.
- MILLER, R.I. Investigations into the biology of three 'phycomycotic' agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia**, v.81, p.23-28, 1983.
- MILLER, R.I.; CAMPBELL, R.S.F. Clinical observations on equine phycomycosis. **Aust. Vet. J.**, v. 58, p. 221-226, 1982a.
- MILLER, R.I.; CAMPBELL, R.S.F. Immunological studies on equine phycomycosis. **Aust. Vet. J.**, v.58, p.227-231, 1982b.

MILLER, R.I.; CAMPBELL, R.S.F. Experimental pythiosis in rabbits. *Sabouraudia*, v.21, p.331-341, 1983.

MILLER, R.I.; CAMPBELL, R.S.F. The comparative pathology of eqüine cutaneous phycomycosis. *Vet. Pathol.*, v.21, p.325-332, 1984.

MILLER, R.I.; OLCOTT, B.M.; ARCHER, M. Cutaneous pythiosis in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.186, n.9, p.984-986, 1985.

MONTEIRO, A.B. **Imunoterapia da pitiose eqüina: teste de eficácia de um imunobiológico e avaliação leucocitária em animais infectados naturalmente pelo *Pythium insidiosum*.** Santa Maria, 1999. 52p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1999.

MOORE-LANDECKER, J. **Fundamentals of the fungi.** 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. Cap. 3: Zoosporic fungi: p.33-79, 1996.

MORTON, L.D.; MORTON, D.G.; BAKER, G.J. Chronic eosinophilic enteritis attributed to *Pythium sp* in a horse. *Vet. Pathol.*, v. 28, p. 542-544, 1991.

MURRAY, D.R.; LADDS, P.W.; JOHNSON, R.H. Metastatic phycomycosis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.172, n.7, p.834-836, 1978.

NEWTON, J.C.; ROSS, P.S. Equine Pythiosis: An overview of immunotherapy. *Compend Contin. Educ. Pract. Vet.*, v.15, n.3, p.491-493, 1993.

PINTO, A.M.; ALVES, S.H.; FLORES, E.F. Padronização de um teste ELISA para pitiose. In: JORNADA ACADÉMICA INTEGRADA, 14, 1999, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1999, p.695.

PURCELL, K. L.; JOHNSON, P.J.; KREEGER, J.M. Jejunal obstruction caused by a *Pythium insidiosum* granuloma in a mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.205, n.2, p.337-339, 1994.

ROSA, P.S.; NEWTON, J.C.; TRICHE, P. An ELISA test to detect *Pythium insidiosum* infection in horses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20, 1999, Salvador, BA. **Anais...**, Salvador: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1999, p.151.

SANTOS, M.N.; LONDERO, A.T. Zigomicose subcutânea em cavalos. *Pesq. Agropec. Bras.-Sér. Vet.*, v.9, p.7-8, 1974.

SANTOS, M.N.; METZDORF, L.L.; BRAGA, M.M. Pitiose cutânea em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.7, n.3, p.57-61, 1987.

SANTURIO, J.M.; MONTEIRO, A.B.; LEAL, A.T. Cutaneous Pythiosis insidiosi in calves from the Pantanal region of Brazil. *Mycopathologia*, v.141, p.123-125, 1998.

SATHAPATAYAVONGS, B.; LEELACHAIKUL, P.; PRACHAKTAM, R. Human pythiosis associated with Thalassemia Hemoglobinopathy Syndrome. *J. Infect. Dis.*, v.159, n.2, p.274-280, 1989.

SEDRISH, S.A.; MOORE, R.M.; VALDES-VASQUES, M.A. Adjunctive use of a neodymium:yttrium-aluminum garnet laser for treatment of pythiosis granulomas in two horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.211, n.4, p.464-465, 1997.

SEKHON, A.S.; PADHYE, A.A.; GARG, A.K. *In vitro* sensitivity of *Penicillium marneffei* and *Pythium insidiosum* to various antifungal agents. *Eur. J. Epidemiol.*, v.8, n.3, p.427-432, 1992.

SHENEP, J.L.; ENGLISH, B.K.; KAUFMAN, L. Successful medical therapy for deeply invasive facial infection due to *Pythium insidiosum* in a child. *Clin. Infect. Dis.*, v.27, n.6, p.1388-1393, 1998.

SILVA, R.A.M.S.; AROSEMENA, N.A.E.; HERRERA, H.M. Outbreak of trypanosomosis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-Grossense, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.60, p.167-171, 1995.

TABOSA, I.M.; MEDEIROS, V.T., DANTAS, A.F.M. Pitiose cutânea em eqüídeos no semi-árido da Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.51, p.27-30, 1999.

THITITHANYANONT, A.; MENDOZA, L.; CHUANSUMRIT, A. Use of an immunotherapeutic vaccine to treat a life-threatening human arteritic infection caused by *Pythium insidiosum*. *Clin. Infect. Dis.*, v.27, n.6, p.1394-1400, 1998.

TRISCOTT, J.A.; WEEDON, D.; CABANA, E. Human subcutaneous pythiosis. *J. Cut. Pathol.*, v.20, n.3, p.267-271, 1993.

TÚRY, E.; CORÔA, A.C. Pitiose cutânea em equinos no estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...**, Porto Alegre: Sociedade de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. 308p. p.150.

Comunicado Técnico, 34

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Pantanal
Endereço: Rua 21 de Setembro, 1880
Caixa Postal 109
CEP 79320-900 Corumbá, MS
Fone: 67-2332430
Fax: 67-2331011
Email: sac@cpap.embrapa.br

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

1ª edição
1ª impressão (2004): Formato digital

Comitê de Publicações

Presidente: Aiesca Oliveira Pellegrin
Secretário-Executivo: Marco Aurélio Rotta
Membros: Balbina Maria Araújo Soriano
Evaldo Luis Cardoso da Silva
José Robson Bezerra Sereno
Regina Célia Rachel dos Santos

Expediente

Supervisor editorial: Marco Aurélio Rotta
Revisão de texto: Mirane dos Santos Costa
Tratamento das ilustrações: Regina Célia R. Santos
Editoração eletrônica: Regina Célia R. Santos
Élcio Lopes Sarah