

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Pitiose em cães no semiárido nordestino

Paula Valeska Nóbrega Diniz

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Pitiose em cães no semiárido nordestino

Paula Valeska Nóbrega Diniz
Graduanda

Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas
Orientador

Patos, PB
Agosto de 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

D585p Diniz, Paula Valeska Nóbrega
 Pitiose em cães no semiárido nordestino / Paula Valeska
 Nóbrega Diniz. – Patos, 2014.
 40f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e
Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas”

Referências.

1. *Pythiuminsidiosum*. 2. Caninos. 3. Granulomas. 4. Imuno-
histoquímica. I. Título.

616:619

CDU

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

PAULA VALESKA NÓBREGA DINIZ
Graduanda

Monografia apresentada a Universidade Federal
de Campina Grande como requisito para
graduação em Medicina Veterinária.

ENTREGUE EM: ____/____/____

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas (ORIENTADOR)	NOTA
Prof. Dr. Almir Pereira de Souza EXAMINADOR I	NOTA _____
MSc. Maria Talita Soares Frade EXAMINADOR II	NOTA

Dedico este trabalho a todos que participaram da minha formação pessoal e acadêmica, em especial aos meus pais, meus avôs, meu filho(*in memoriam*), meu esposo e meu irmão, que foram e são exemplos de vida e a base da minha estrutura.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pois tudo o que acontece na minha vida é permitido por ele. A Maria, mãe de Jesus que intercede e me protege sempre.

Aos meus pais, José Paulino da Nóbrega (Bideco) e a Maria José de Moraes Nóbrega por estarem sempre comigo, por me ensinarem a andar sempre com humildade, pelas noites de sono que passaram acordados segurando minhas lágrimas nos períodos de quedas e chorarem comigo nos momentos de vitórias, por sempre me lembrar de quem eu sou, sem esquecer minhas raízes, chamarem minha atenção quando necessário, pelos abraços e beijos e pelo trabalho que ambos tiveram para me trazer até aqui.

Agradeço ao meu esposo (Flaubert) ao tempo de convivência, ao grande presente que meu deu, o nosso filho que mesmo ficando presente em apenas alguns dias de nossas vidas foi o suficiente para eu sentir a extrema felicidade.

Ao meu querido irmão amigo Paulo Vinicius, obrigada pela minha infância, pelos cuidados quando nossos pais saíam à busca do sustento para o lar, pelas companhias nas noites de chuva, bicho papão, entre outros tantos medos que fizeram a gente dividir o mesmo quarto por anos, por ser um dos meus exemplos de vida e por der me dado os meus lindos sobrinhos.

A minha cunhada Elane por fazer meu irmão feliz, pelas palavras sinceras quando necessárias. A Fagna pela dedicação que tem a minha sogra (Netinha) nos cuidados, aos cuidados nas noites de hospital que passei internada. Obrigada as duas pelos sobrinhos (José Miguel, Paulo Filho e Maria Regina). A minha sogra Gertrudes (D. Netinha) que mesmo doente, sempre se mostra preocupada com quem ama.

Aos meus sobrinhos que mesmo pequeninos já me dão grande lições de vida. A Miguel pelo "achou" quando tinha apenas um aninho.

Aos meus tios (Nazaré, Tatiana, Cícera, Cicero, Manuel, Benedita, Severina, Luiza, Helena e Eva), aos meus primos e suas esposas e esposos, em especial à Fabrícia, Williane, Emanuelle, Cristina, Terá, Raimundo, João, Junior, Segundo; aos tios e primos da família Diniz; aos meus afilhados Kaleon, Everton e Ana Francisca.

As meus Padrinhos: Galego, Ana Paula e Suzete. Aos amigos que conquistei no decorrer da vida, a turma da "Luluzinha" (Ediane, Thaís, Gabryelle, Iriane (Bozena), Giulliane, Leiliaan e Greyce e Rossandra) aos meninos (Lamartine, Cainã, Múcio, Ramon,

Arthur, Artur, Gió, Daniel, Caio, Louis, Junior, Iuri, Sollyto, Hélio, Pablo, Rodrigo, Lucas, Adailson, Laio, Alisson e Natan) os de infância, Deysilane, Deysilene, Ed Gleysson, David, Lidane, Nélia, Ariane, Gelda, Aline, Elaine, Fernanda, Bruno. A Rúbia, Charles, Robson, Vinicius, Emanuelle, Dona Onete, Dona Aparecida, Lúcia, Valdete, Luzia, Joana entre outros tantos.

Agradeço a todos os professores que me proporcionaram conhecimentos, caráter e afetividades, pelo tempo de dedicação a mim e aos meus companheiros de curso, em especial ao Professor Antônio Flávio, pela orientação, paciência e oportunidade dada para o meu crescimento. Obrigada por ser um grande mestre e cobrar quando necessário.

À turma da Patologia Nervinha, Lisanka, Fabrício, Eduardo, Robério, Tálita, Jefersson e Milena. A equipe Civet pelo acolhimento, ensinamento e confiança; a equipe Civet: Segundo, Luciana, Mariana, Larissa, Patricia, Flauana, Ana de Fatima, Isa, Vitoria, Rubi, Junior, Seu Edmon, pelos períodos de aprendizados e confiança que me foi dada ao estagiar na clinica e pelo companheirismo que vir nos decorres dos dias estágios.

Aos animais, os quais eu sempre fui apaixonada e para quais opteis por dedicar minha vida profissional em busca de conhecimentos para cura-los. Aos de estimação Lessy, Snoppy, Pelé, Bam - Bam, Kadu, Gato, Baiano, quais tive o prazer da companhia e amizade.

SÚMARIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS	9
TABELA	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Etiologia	13
2.2 Epidemiologia	14
2.4 Pitiose Canina	16
2.4.1 Gastrointestinal	16
2.4.2 Cutânea.....	17
2.4.3 Prostática.....	18
2.5 Diagnóstico	19
2.6 Tratamento	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
4 RESULTADOS	23
5 DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÕES	34
7 REFERÊNCIAS	35

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Pitiose intestinal em cão. Raio-X contrastado, vista látero-lateral direita, mostrando o contraste no estômago e na porção inicial do duodeno (seta), sugestivo de obstrução duodenal (caso 01).	24
Figura 3 - Pitiose cutânea em cão. Observa-se cão sem cauda e com áreas irregulares de alopecia, focalmente extensa e áreas multifocais a coalescentes ulceradas (seta) na região perianal e sacral (caso 02).	25
Figura 4 - Pitiose intestinal em cão (caso 01). A - Massa irregular envolvendo a serosa do duodeno, pâncreas e linfonodos pancreático e mesentérico. B - Foto aproximada da figura A, mostrando aumento de volume no polo caudal do pâncreas. C - Espessamento da parede do duodeno, com áreas amareladas irregulares na superfície de corte. D - Corte transversal do duodeno, áreas multifocais a coalescentes granulares amareladas e irregulares, circundadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante, entremeadas por áreas amarronzadas.....	26
Figura 5 - Pitiose cutânea e intestinal em cão (caso 02). A - Espessamento da pele e do subcutâneo com áreas multifocais a coalescentes amareladas entremeadas por tecido esbranquiçado (setas). B - Aumento de volume se estendendo do ânus a porção final do reto. C - Observa-se espessamento da parede intestinal com áreas amareladas irregulares. D - Superfície de corte transversal do reto apresentando espessamento da parede intestinal, com áreas multifocais amareladas e estenose da luz (seta).	27
Figura 6 - Pitiose intestinal e vaginal em cão (caso 03). A - Espessamento da parede do reto e ânus. B - Observa-se na mucosa da vagina área focalmente extensa irregular e elevada, com áreas avermelhadas entremeadas por áreas amareladas discretas (seta)..	28
Figura 7 - Pitiose intestinal em cão (caso 04). A - Observa-se aumento de volume na serosa do intestino delgado (seta), pâncreas (*) e linfonodo pancreático (cabeça da seta). B - Observa-se massa com áreas irregulares amareladas entremeadas por áreas amarronzadas e cavitações com conteúdo avermelhado (seta).	28
Figura 8 - Pitiose em cão. A - Granuloma com área central de necrose. HE, Obj. 10x. B - Observam-se miríades de estruturas tubuliformes não coradas em cortes transversais e longitudinais, semelhantes a hifas (seta). HE, Obj. 20x. C - Foto B em maior aumento HE, Obj. 40x. D - Observa-se célula gigante contendo hifas não coradas no citoplasma. HE, Obj. 40x.	29

TABELA

Pág.

Tabela 1 - Aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de quatro cães acometidos por pitiose diagnosticados no Laboratório de Patologia Animal/HV/UFCG, no período de janeiro de 2003 a março de 2014.	23
---	----

RESUMO

DINIZ, PAULA VALESKA NÓBREGA. Pitiose em cães no semiárido nordestino. Patos, UFCG. 2014. 40p. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Patologia Animal).

Objetivou-se com este estudo descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de quatro casos de pitiose diagnosticados em cães no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande. Os animais eram das raças poodle, pastor alemão, SRD e pitbull, sendo dois machos e duas fêmeas com idade variando de um a três anos. Dois casos ocorreram em 2011, um em 2013 e um em 2014. Dois eram provenientes de municípios da Paraíba e dois do Rio Grande do Norte. Os quatro animais eram criados na zona urbana, três tiveram acesso a áreas alagadas da zona rural e o que não teve contato com área alagada, ingeria água de poço. Os sinais clínicos foram variados, observando-se vômito, diarreia e tenesmo. Em dois cães havia suspeita de obstrução intestinal e um tinha primariamente envolvimento cutâneo. Macroscopicamente, em dois casos havia uma massa amarelada irregular e firme envolvendo a porção inicial do intestino delgado, afetando duodeno, pâncreas, linfonodos mesentérico e pancreático e no quarto caso também havia lesão no fígado. O segundo caso tinha lesões ulcerativas com secreção serossanguinolenta na pele que estendia da região dorso-caudal a sacral, para a porção de ânus e final do reto. O terceiro caso apresentava espessamento da parede do reto e ânus com nódulos irregulares que se estendiam a região perianal, havendo também comprometimento transmural da vagina. Histologicamente as lesões eram semelhantes, caracterizadas por múltiplos granulomas contendo imagens negativas de hifas em tecidos corados pela hematoxilina eosina (HE). Para melhor visualização das hifas foi usadas colorações especiais de metenamina nitrato de prata de Grocott (GSM) e ácido periódico de Schiff (PAS). O diagnóstico foi realizado com base nos achados epidemiológicos, clínicos e patológicos e histológicos, com confirmação pela imuno-histoquímica. A pitiose ocorre esporadicamente em cães da região semiárida nordestina e deve ser incluída principalmente no diagnóstico diferencial das doenças que causam obstruções do trato gastrointestinal.

Palavras-chave: *Pythium insidiosum*, caninos, granulomas, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

DINIZ, PAULA VALESKA NÓBREGA. Pythiosis dogs in the northeastern semiarid. Patos, UFCG. 2014 40p. (Work Completion of course in Veterinary Medicine, Animal Pathology).

The objective of this study was to describe the epidemiological, clinical and pathological features of four cases of pythiosis in dogs diagnosed at the Laboratory of Animal Pathology, Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande. The animals were breeds poodle, German shepherd, pitbull and SRD, two males and two females ranging in age from one to three years. Two cases occurred in 2011, one in 2013 and one in 2014, were from two municipalities of Paraíba and two of Rio Grande do Norte. The four animals were bred in the urban area, three had access to flooded areas of the countryside and which had no contact with wetland, drank well water. Clinical signs were varied, observing vomiting, diarrhea and tenesmus. Two dogs had suspected bowel obstruction and one had primarily cutaneous involvement. Macroscopically, in two cases there was an irregular, firm yellowish mass involving the initial portion of the small intestine, affecting the duodenum, pancreas, mesenteric lymph nodes and pancreatic and fourth case also had liver damage. The second case had ulcerative lesions with serosanguineous secretion in the skin region that stretched from the sacral dorsal-caudal to the anus and the end portion of the rectum. The third case showed thickening of the wall of the rectum and anus with irregular nodules that extended the perianal region, also with transmural involvement of the vagina. Histologically, the lesions were similar, characterized by multiple granulomas containing negative images of hyphae in tissue sections stained with hematoxylin eosin (HE). For better visualization of hyphae was used special stains methenamine silver Grocott (GSM) and periodic acid Schiff (PAS). The diagnosis was based on epidemiological, clinical and pathological and histological findings with confirmation by immunohistochemistry. Pythiosis occurs sporadically in dogs from northeastern semiarid region and should be included in the differential diagnosis mainly of diseases that cause obstruction of the gastrointestinal tract.

Key-words: *Pythium insidiosum*, canine, granulomas, immuno-histochemistry.

INTRODUÇÃO

A pitiose é uma doença causada pelo pseudofungo *Pythium insidiosum*, que promove lesão inflamatória granulomatosa nos animais e no homem (IMWIDTHAYA, 1994; MENDOZA, AJELLO e LIMCGNNISIM, 1996; BERRYESSA et al., 2008).

Os animais são infectados quando têm contato com locais alagados que contém a forma infectante do agente, denominada de zoósporos móveis, que são atraídos para a pele ou ingeridos juntamente com a água ou plantas aquáticas. As formas clínicas da doença são bastante diferenciadas e os sintomas variam de acordo com o local da lesão e expansão da mesma. O tratamento mais indicado é a remoção cirúrgica, porém vale salientar a importância do diagnóstico precoce, evitando-se assim o aumento da lesão, disseminação para outros órgãos e até mesmo a morte do animal.

No Brasil, a pitiose já foi descrita em equinos, caninos, ovinos e bovinos (TRINDADE et al., 2001). No Estado de São Paulo, Larsson et al., (1997) descreveram o primeiro relato de pitiose canina no país, posteriormente casos de pitiose gastrointestinal e cutânea foram descritos em vários estados brasileiros (RECH, GRAÇA e BARROS, 2004; SANTURIO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; TROST M. E., 2009; HUNNING, 2010; PEREIRA et al., 2010; NÓBREGA et al., 2013; STRAGLIOTTO et al., 2014).

A pitiose é frequentemente diagnosticada na rotina do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário, da Universidade Federal de Campina Grande, (LPA/HV/UFCG), tendo uma maior ocorrência em equinos (TABOSA et al., 1999), mas também diagnosticada em outras espécies como ovinos, caprinos, bovinos e avestruz (DANTAS 2014, Comunicação Pessoal). Recentemente foram observados casos de pitiose em animais de companhia, sendo uma doença incomum na rotina da clínica médica de pequenos animais, mas que tem sido diagnosticada no LPA. Tendo em vista a importância desta infecção na região, objetivou-se com este trabalho descrever os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da pitiose gastrintestinal e cutânea em cães.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia

O *Pythium insidiosum* é o agente etiológico da pitiose, um microrganismo aquático pertencente ao Reino Straminipila, Filo Oomycota, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales, Família Pythiaceae, e Gênero *Pythium*, (MONTEIRO, 1999). Foi isolado pela primeira vez em 1901 por cientistas holandeses que trabalhavam com cavalos na Indonésia e novamente em 1924 por outro holandês, na época o agente foi nomeado de *Hyphomycosis destruens equi* (TRINDADE et al., 2001).

Este agente era classificado no Reino Fungi, porém após estudos detalhados sobre a classificação dos fungos baseados na sistemática filogenética e análises moleculares, optou-se por dividir o Reino Fungi em três reinos: Fungi, Straminipila e Protista (ALEXOPOULOS, MIMS e BLACKWELL, 1996), tais diferenças ocorrem principalmente devido às diferenças na parede celular das células, havendo predominância de celuloses e β -glucanos oomiceto e quitina na parede fúngica, e na composição da membrana a diferença se dar na presença de esteroides nos oomiceto em vez do ergosterol, que é o principal esteroide, componente-alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas (FOIL, 1996; KRAJAEJUM et al., 2002). Atualmente há mais de 120 espécies de *Pythium* conhecidas, várias delas associada a doenças em plantas de importância econômica, entretanto o *P. insidiosum* é a única espécie responsável pela doença em mamíferos (RIVIERRE et al., 2005; KRAJAEJUN et al., 2006).

Para manter seu ciclo, *P. insidiosum* necessita de água com baixa concentração de íons, pH próximo à neutralidade, temperatura elevada (entre 30° e 40°C) e alguma espécie de planta hospedeira (MENDOZA, AJELLO e MCGINNIS, 1996). Em condições ambientais favoráveis, há crescimento de hifas a partir do oósporo pré-existente.

A germinação de cada oósporo ou esporângio parte um primórdio de tubo germinativo terminado por uma vesícula, o conteúdo protoplasmático do oósporo ou do esporângio migra para o interior da vesícula, onde se diferencia em oósporos unicelulares móveis, promovidos de flagelos, denominados zoósporos, que são células nucleadas únicas sem uma parede celular que pode nadar com a ajuda de dois flagelos, um anterior e outro posterior, onde o flagelo posterior é responsável pelo movimento do zoósporo através da

água e o flagelo anterior é atuar como leme, que nada em um padrão helicoidal ou espiral interrompido por mudanças aleatórias de direção (CANEDO, 2010).

Responsáveis pela infecção, produzidos e liberados no ambiente aquático, os zoósporos são capazes de colonizar plantas (MENDOZA, AJELLO e MCGINNIS, 1996) e em condições especiais infectar tecidos de animais e humanos (MARQUES et al., 2006), mostrando quimiotaxia e tornam-se encistados uma vez que entram em contato com um ou outro tecido vegetal em decomposição ou com o tecido de um hospedeiro que entra no seu ecossistema. A adesão ao animal se dar através de uma glicoproteína secretada pela superfície dos zoósporos encistados permitindo a adesão ao tecido lesionado (ESTRADA et al. 1990; MENDOZA AJELLO e MCGINNIS, 1996).

2.2 Epidemiologia

A doença ocorre em todo o mundo, sendo descrita principalmente nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas, do continente Asiático (SOHN et al., 1996) e Tailândia (IMWIDTHAYA, 1994); Oceania (KROCKENBERGER, 2011); América do Sul (MENDOZA et al., 2005; TROST, 2009; PEREIRA et al., 2010; NÓBREGA et al., 2013); América Central (MENDOZA e ALFARO, 1986); América do Norte (FISCHER J. R. et al., 1994; JAEGER, ROTSTEIN e LAW, 2002; BERRYESSA et al., 2008).

O *Pythium. insidiosum* habita o solo e ambientes aquáticos (MENDOZA e NEWTON, 2005). O ciclo baseia-se na colonização de plantas aquáticas, que servem de substrato para o desenvolvimento e reprodução do organismo, formando os zoosporângios. Os zoósporos livres na água movimentam-se até encontrar outra planta ou animais, onde se encistam e emitem tubo germinativo, dando origem a um novo micélio e completando seu ciclo. Para que haja o desenvolvimento dos zoósporos são necessárias temperaturas entre 30°C e 40°C e acúmulo de água com baixa concentração de íons e pH próximo à neutralidade. O acesso dos animais a fontes de água e ambientes externos é descrito em quase todas as espécies contaminadas pela pitiose, sendo que boa parte dos animais permanece algum tempo submerso nela (BUERGELT, POWE e WHITE, 2006;).

Com o aumento dos ambientes favoráveis, o *P. insidiosum* se expandiu e hoje a enfermidade já é diagnosticada em quase todos os continentes, acometendo mamíferos e aves entre os quais estão incluídos os equinos (A M A R A L et al., 2013), caninos (HUNNING et al., 2010), felinos (PAULINE et al., 2005), bovinos

(GABRIEL et al., 2008), humanos (MARQUES et al., 2006), urso de cativo, dromedário, jaguar, (CAMUS, GROOTERS e AQUILAR, 2004), camelo, tigre de bengala (BUERGELT, POWE e WHITE, 2006) e avestruz (PENSAVENTO et al., 2008). Inundações após chuvas fortes têm sido consideradas como um dos recursos naturais utilizados pelo *P. insidiosum* para expandir seu nicho ecológico a novas áreas (MENDOZA, AJELLO e HERNANDEZ, 1993).

No Brasil, a pitiose já foi descrita em equinos, ovinos, bovinos e caninos, (TRINDADE et al., 2001). A maioria dos casos corresponde a lesões cutâneas em equinos (MENDOZA e NEWTON, 2005). O primeiro relato em equinos ocorreu no Rio Grande do Sul, por Santos e Londero (1974). A partir de então vários casos foram diagnosticados no Mato Grosso do Sul, Pantanal, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco e São Paulo (SANTOS et al., 1987; MEIRELES, RIET e FISCHMAN, 1993; MORAL, BINDER e JULY, 1997; LÉO, ET AL., 2008), sendo o Pantanal brasileiro o local de maior ocorrência de pitiose equina do mundo (MENDOZA, AJELLO e MCGINNIS, 1996). Em 1997 Larsson et al. descreveu no país o primeiro caso em um cão, no estado de São Paulo, posteriormente casos de pitiose canina gastrointestinal e cutânea foram descritos no Rio Grande do Sul (RECH, GRAÇA e BARROS. 2004; RODRIGUES et al., 2006; TROST et al., 2009; HUNNING et al., 2010, PEREIRA et al., 2010. Além dos casos publicados, relatos informais de médicos veterinários indica o aumento da doença em vários estados brasileiros.

No semiárido paraibano a doença é comumente diagnosticada em equino, mas também frequente em ovinos (TABOSA et al., 2004; PORTELA et al., 2010; PESSOA et.al., 2012), além de casos esporádicos em caprino, bovino, avestruz e cães (DANTAS 2014, Comunicação Pessoal)

2.3 Patogenia

Os zoósporos encistados secretam uma glicoproteína adesiva amorfa que favorece a adesão do zoósporo ao tecido antes de invadir o mesmo (MENDOZA, HERNANDEZ e AJELLO, 1993). Eles são estimulados pela temperatura do corpo do hospedeiro e desenvolvem um tubo germinal (hifa) que se estende desde o tecido infectado e posteriormente podem também infiltrar os vasos sanguíneos (humanos e cães), fazendo a disseminação dentro dos tecidos do corpo. A doença pode ser adquirida através de lesões

traumáticas ou íntegras em contato com hifas do *P. insidiosum* (MENDOZA e ALFARO, 1986). A invasão de vasos sanguíneos pode levar à trombose e invasão de grandes artérias (IMWIDTHAYA, 1994; THITITHANYANONT et al., 1998). Junto ao *P. insidiosum*, a colonização do hospedeiro pelo crescimento invasivo, a secreção de proteases e o esforço da força mecânica pelas pontas das hifas do alongamento têm sido implicados como fatores de virulência (RAVISHANKAR et al., 2001). A pitiose progride rapidamente e se não for tratado nas fases iniciais pode ser fatal.

2.4 Pitiose Canina

Os cães são a segunda espécie mais acometida pela pitiose, podendo apresentar a doença na forma gastrintestinal, cutânea e prostática, havendo relatos de metástase para outros órgãos (JAEGER, ROTSTEIN e LAW, 2002; RIVIERRE et al., 2005; SANTURIO et al., 2006). A forma de maior ocorrência é a gastrintestinal, seguida pela cutânea. Apesar de ser rara, a forma gastrintestinal e cutânea podem acometer um mesmo animal (RECH, GRAÇA e BARROS, 2006; PEREIRA et al., 2010). Segundo Miller (1983) há um maior relato de casos em cães machos, de grande porte, jovens de 1 a 3 anos de idade e que teve contato com áreas alagadiças ou beira de açudes, porém com o decorrer dos anos a apresentação de novos casos, tem mostrado que não há relação entre raça, idade ou sexo com o desenvolvimento da doença (FISCHER et al., 1994).

2.4.1 Gastrintestinal

A forma gastrintestinal é a mais comum e manifesta-se com distúrbios digestivos como vômito, halitose, diarreia que pode serosanguinolenta devido à ulceração e necrose intestinal, perda de peso, anorexia crônica e dor abdominal, (BENTINCK-SMITH et al., 1989). Massa nodular pode ser observada na palpação (BENTINCK - SMITH et al., 1989). A radiografia simples e ultrassonografia têm sido utilizadas no diagnóstico clínico, as quais podem revelar espessamento segmentar do trato gastrintestinal, massa abdominal ou linfadenopatia mesentérica (GROOTERS, 2003). Macroscopicamente, o achado mais frequente é o espessamento do intestino delgado, com ou sem estenose (BENTINCK-SMITH et al., 1989; MENDOZA e NEWTON, 2005), associado ou não a massas intestino grosso, estômago, jejuno e linfonodos mesentéricos (LILJEBJELKE et al., 2002), podendo

haver envolvimento do pâncreas, esôfago e/ou faringe (PATTON et al., 1996; MENDOZA, MANDY e GLASS 2003; GROOTERS e FOIL, 2006; BERRYESSA et al, 2008). Os testes laboratoriais podem revelar anemia suave à moderada não regenerativa e leucocitose neutrofílica.

Na histologia há presença de inflamação multifocal piogranulomatosa e/ou granulomatosa com áreas de fibrose (FISHER et. al., 1994; PATTON et al., 1996), acometendo a lâmina própria, submucosa e muscular, deformando parcialmente a arquitetura do órgão (LILJEBJELKE et al., 2002). Os piogranulomas consistem de focos necróticos infiltrados e circundados por neutrófilos, macrófagos epitelioides, plasmócitos, células gigantes multinucleadas, eritrócitos e eosinófilos (FISHER et al., 1994), sendo que os últimos são um componente importante do infiltrado inflamatório (HELMAN e OLIVER, 1999). Quando há envolvimento dos linfonodos mesentéricos e órgãos adjacentes, estes apresentam infiltrados inflamatórios mistos e áreas de necrose contendo numerosas hifas (LILJEBJELKE et al., 2002), vasculite necrosante e trombos de fibrina são vistos esporadicamente (PATTON et al., 1996; HELMAN e OLIVER, 1999). Na coloração com HE, o *Pythium* se mostra como imagens tubiliformes longitudinais ou transversais não coradas dentro dos granulomas, (FISHER et al., 1994).

As hifas são visualizadas com a coloração metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS), onde podem ser visualizadas hifas raramente septadas com 3 a 10 µm de diâmetro, com paredes aproximadamente paralelas nos granulomas, em poucos casos, as hifas são levemente basofílicas, com espessuras que variam de 1,5 a 8,3 µm (PATTON et al., 1996).

2.4.2 Cutânea

Na pitiose cutânea as lesões apresentam-se como dermatite piogranulomatosa ulcerativa, contendo áreas de necrose infiltrada por neutrófilos e macrófagos e granulomas eosinofílicos, em geral não são pruriginosas (DYKSTRA et al., 1999) e progridem rapidamente (FOIL et al., 1984). Inicialmente notam-se áreas levemente elevadas na pele, com eritema e alopecia (HENSEL, GREENE e MEDLEAU, 2003). A doença frequentemente tem evolução de 1 a 3 meses. Porém, Brayer et al., (2010), relata o caso de uma cadela da raça labrador com pitiose cutânea e gastrointestinal, onde a enfermidade teve evolução de 12 meses. Esta diferença de tempo de sobrevivência pode ser atribuída ao

fato de que a maioria dos animais infectados serem sacrificados após o tratamento mal sucedido e/ou recidivas frequentes (DYKSTRA et al., 1999; RIVIERRE et al., 2005).

Macroscopicamente a lesão consiste de nódulos únicos ou múltiplos de 1 a 8 cm de diâmetro (DYKSTRA et al., 1999), ou massas ulceradas de até 30 cm de extensão, que envolvem pele, tecido subcutâneo e músculo (FOIL et al., 1984; HOWERTH, BROWN e CROWDER, 1989). Em casos mais avançados a massa pode envolver, além da derme e tecido subcutâneo, a parede abdominal, costelas e órgãos internos. Parte desse envolvimento se deve à proliferação de tecido de granulação misturado a áreas de necrose (BENTINCK et al., 1989). Já foram descritas lesões em cabeça, tronco, membros, cauda, abdômen, bolsa escrotal, prepúcio (FOIL et al., 1984)

Histologicamente, o padrão de inflamação mais comum visto na coloração HE é a dermatite ulcerativa e piogranulomatosa (RIVIERRE et al., 2005), composta por áreas de inflamação e necrose da derme, com numerosos neutrófilos e eosinófilos (HENSEL, GREENE e MEDLEAU, 2003), às vezes combinadas a granulomas formados unicamente por macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas ou repletas de detritos celulares eosinofílicos e raramente mastócitos (HOWERTH, BROWN e CROWDER, 1989). Podendo haver trombose arteriolar acentuada, fibroplasia e neovascularização em alguns casos (FOIL et al., 1984; HOWERTH, BROWN e CROWDER., 1989; HENSEL, GREENE e MDLEAU, 2003), com raras hifas associadas à parede das artérias (FOIL et al., 1984). Na coloração com GMS a revelação de grande quantidade de hifas nas áreas de inflamação e necrose da derme (FOIL et al., 1984) e menos numerosas nos granulomas (HOWERTH, BROWN e CROWDER., 1989). As hifas têm paredes espessas e quase paralelas, e variam de 3 a 10 μm , com poucos septos espessos e ramificações ocasionais (FOIL et al., 1984; HOWERTH, BROWN e CROWDER, 1989; HENSEL, GREENE e MDLEAU, 2003).

2.4.3 Prostática

A forma prostática em cães foi relatada por JAEGER; ROTSTEIN e LAW, 2002, na Carolina do Norte em um cão da raça Setter Irlândes de quadro anos de idade. Os sinais clínicos são semelhantes à pitiose gastrointestinal, acrescido de tenesmo crônico progressivo e estrangúria. Foi observado o aumento da próstata nos exames físicos com múltiplas cavitações no interior da glândula, sem evidência de mineralização e

espessamento da parede da bexiga urinária. Aumento da próstata, abscesso prostático lobuloso, regiões eritematosas na parede de bexiga e uretra podem ser observadas. Microscopicamente pode ser observada inflamação supurativa crônica, granulomas multifocais e infiltrados nodulares supurativos separados por bandas grossas de tecido conjuntivo fibroso com presença de plasmócitos, macrófagos, linfócitos, células gigantes multinucleadas, basófilos, restos celulares e hifas fúngicas e necrose.

2.5 Diagnóstico

A certa dificuldade no diagnóstico da pitiose, devido a semelhanças desta com outras doenças cutâneas e intestinais de cães, que torna o seu diagnóstico diferencial desafiador (MENDOZA et al., 2005), porém o diagnóstico definitivo deve ser realizado por cultura seguida de identificação do patógeno, baseando-se em características culturais, morfológicas e reprodutivas. Técnicas de sorologia, imuno-histoquímica e PCR (reação de polimerase em cadeia) podem ser utilizadas (RACICH et al., 2005).

No exame histopatológico de lâminas coradas com GSM ou PAS (ácido periódico-Schiff) são visualizadas hifas (MENDOZA e NEWTON, 2005), mas não é um exame confirmatório, pois existem outros fungos que podem produzir o mesmo tipo de lesão, como as zigomicoses e as lagenidioses (RACICH et al., 2005).

O isolamento do *P. insidiosum* é realizado com amostras de biópsias ou necropsias armazenadas ou transportadas à temperatura ambiente, com o acréscimo de antibióticos, podendo ser armazenada entre 1 e 3 dias antes de seu processamento no laboratório. Quando não há antibióticos na amostra esta deve ser transportada a 4°C evitando-se assim a contaminação da amostra por bactérias e aumentando as chances de isolamento do agente nos tecidos infectados. Alguns autores sugerem o uso, como rotina para isolamento do agente, ágar V8 (MILLER, 1983), acrescido de estreptomicina (200µg/mL) e ampicilina (100µg/mL).

Fragmentos pequenos de tecido fresco, não macerado, podem ser distribuídos diretamente na superfície do ágar e incubado a 37°C onde o crescimento é observado entre 12 e 24 horas após (GROOTERS, 2003). A identificação de isolados de *P. insidiosum* pode ocorrer através do aspecto da colônia e na característica das hifas.

A técnica sorológica impulsionada por Miller e Campel (1983), visava avaliar o diagnóstico e monitoramento da resposta imunológica em equinos afetados, as principais

técnicas desenvolvidas foram a de imunodifusão em gel de agár (ID), fixação do complemento (FC) e o teste de hipersensibilidade intradérmica (TI), e nestes o teste de ID apresentou alta sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos anti *P. insidiosum*.

Outro teste utilizado para o soro diagnóstico da pitiose é o ELISA, desenvolvido por Medonça et al., 1997, demonstrando ter maior sensibilidade do que o ID e com a mesma especificidade do ID.

O sequenciamento gênico com amplificação do RNA ribossomal através de PCR é uma ferramenta poderosa para detecção e identificação de *P. insidiosum* (MURDOCH e PARR, 1997).

2.6 Tratamento

O tratamento da infecção se dá por métodos terapêuticos, cirúrgico, quimioterápico e/ou imunoterápico (MENDOZA, HERNANDEZ e AJELLO, 1996). O sucesso das diferentes formas de tratamento é variável e, em muitos casos influenciados pelo tamanho e duração da lesão, idade e estado nutricional do animal.

A cirurgia é a terapia de escolha para o tratamento da pitiose. A intervenção cirúrgica requer retirada de toda área afetada, com margem de segurança de 3-4 cm, porém isso é dificultado pelas estruturas anatômicas envolvidas, principalmente nos membros (MILLER, 1981). É indicada a amputação de membros com lesões cutâneas extensas devido à impossibilidade em deixar a margem de segurança. A debridação cirúrgica de lesões de pele em cavalos e cães também pode ser realizada, porém há um alto índice de recorrência (GAASTRA et al., 2010) e em alguns casos, como em lesões localizadas na extremidade dos membros, a excisão é inviável (MILLER, 1983).

O tratamento com antifúngicos é complicado pelas características singulares do agente que difere dos fungos verdadeiros na produção de zoósporos móveis, na composição de sua parede celular, e na membrana plasmática que não contém esteróides, como o ergosterol, que é o componente-alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas (FOIL, 1996). Devido a essas características, a utilização de fármacos antifúngicos é quase que ineficiente no combate ao *P. insidiosum*. Fármacos utilizados até hoje incluem anfotericina B (FOIL et al., 1984), itraconazol (DYKSTRA et al., 1999), fluconazol, cetoconazol (RIVIERRE et al., 2005), terbinafina (PEREIRA et al., 2010), iodeto de sódio

e potássio (MENDOZA e NEWTON, 1996). Relatos de um pequeno número de cães com pitiose gastrointestinal sugerem que a combinação de itraconazol e terbinafina podem ser eficaz para a resolução de lesões ou incompletamente ressecados metástases. Em um relato de caso o uso do itraconazol e terbinafina tem mostrado bons resultados quando usado no pós-operatória, tanto em cães como em gatos, (RAKICH, GROOTERS e TANG, 2005). Porém vale salientar que tais fármacos foram utilizados após o tratamento cirúrgico, deixando em duvida sua comprovação dos mesmos contra o agente. Servindo então, como tratamento secundário, a fim de evitar contaminações fúngicas posteriores.

A imunoterapia foi proposta por Miller (1983), a partir de culturas do próprio *Phytium*. No decorrer da década de 80 e 90 vários autores utilizaram a imunoterapia. No Brasil, o teste de eficiência de um imunobiológico (PitiumVac) para o tratamento da pitiose equina, demonstrou um índice de cura que variou de 50% a 83,3% entre os grupos tratados (MONTEIRO, 1999). Em 2003 Hensel et al. sugeriram a imunoterapia para o tratamento de pitiose em cães, após constatarem a cura de um cão com pitiose cutânea tratado com imunoterapia, vacina anti- *P. insidiosum*, porém até o ano de 2005 a imunoterapia em cães e foi desapontadora, pois somente 33% dos cães tratados não responderam ao tratamento (MENDOZA e NEWTON, 2005).

As explicações para cura induzida pela imunoterapia são apenas propostas, baseadas nas características clínicas, histopatológicas e sorológicas da infecção e seu tratamento. Acredita-se que os antígenos citoplasmáticos expostos ao sistema imune dos animais via vacinação originariam uma resposta humoral e celular capaz de combater a infecção natural. Atualmente não há mais relatos do avanço na utilização da imunoterapia em cães, (SANTURIO et al, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo dos laudos de necropsias de cães no Laboratório de Patologia Animal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, durante o período de janeiro de 2003 a março de 2014, e destes foram selecionados os casos de pitiose canina, sendo anotadas informações referentes aos dados epidemiológicos, como a idade, sexo, raça, época do ano, procedência do animal, além de exames complementares como radiografia e ultrassonografia.

As descrições das lesões macroscópicas foram realizadas com base nas anotações das fichas de necropsias dos animais afetados e complementadas, quando necessário, através dos registros fotográficos do setor de Patologia Animal. Para as descrições das lesões microscópicas todas as lâminas histológicas foram revisadas. Novas lâminas foram confeccionadas a partir do material acondicionado em formol tamponado a 10%. Secções histológicas foram coradas pela coloração de rotina hematoxilina eosina (HE) e posteriormente realizadas técnicas histoquímicas especiais, como a prata de Grocott (GMS) e o ácido periódico de Schiff (PAS) para melhor caracterização morfológica do agente. Para a confirmação do agente foi realizada imuno-histoquímica com anticorpo anti-*Pythium insidiosum* em todos os casos.

4 RESULTADOS

Durante o período de janeiro de 2003 a março de 2014 foram necropsiados 1.040 cães, destes 4 (0,38%) foram diagnosticados pitiose. Os dados epidemiológicos, clínicos e patológicos encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de quatro cães acometidos por pitiose diagnosticados no Laboratório de Patologia Animal/HV/UFCEG, no período de janeiro de 2003 a março de 2014.

Caso	01	02	03	04
Dados do animal	Poodle Fêmea 3 anos e 4 meses	Pastor Alemão Macho 1ano	SRD, Fêmea 2 anos e 6 meses	Pit bull, Fêmea 3 anos
Ocorrência Origem	Março/2011 Paulista - PB	Agosto/2011 Caicó - RN	Setembro/2013 Parelhas – RN	Fevereiro/2014 Patos - PB
Histórico clínico	Apatia, vômito (2-3 h após alimentar: há 30 dias), tenesmo.	Ferida ulcerada na base da cauda, após 3 meses apresentou hematoquezia.	Diarreia com sangue e tenesmo: evolução: 8 meses	Diarreia com sangue, vômito, apatia, perda de peso e icterícia.
Contato com água de açúde/Zona Rural	Sim	Sim	Sim	Não
Suspeita clínica	Obstrução de duodeno	Pitiose	Obstrução de cólon	Obstrução de duodeno
Órgãos afetados	Duodeno, pâncreas, linfonodos pancreático e mesentérico	Pele (cauda e região perianal), linfonodos inguinais, ânus e reto	Cólon, reto, vagina, linfonodos regionais e pele (região perianal)	Duodeno, pâncreas, linfonodos mesentéricos e pancreático, fígado
Diagnóstico Histopatológico	Enterite, pancreatite e linfadenite granulomatosa	Dermatite, paniculite, linfadenite e enterite granulomatosa	Enterite, vaginite e linfadenite granulomatosa	Enterite, pancreatite, linfadenite e peri- hepatite granulomatosa
Forma da doença	Intestinal	Cutânea e intestinal	Intestinal e reprodutiva	Intestinal

Foram realizadas radiografias abdominais contrastadas em dois animais, onde se observou obstrução parcial de duodeno (caso 1) (Figura 1) e estreitamento na porção final do cólon (caso 4). Também nesse último caso, foi realizado colonoscopia e verificou-se área hiperêmica na mucosa do reto e ulcerações no cólon.

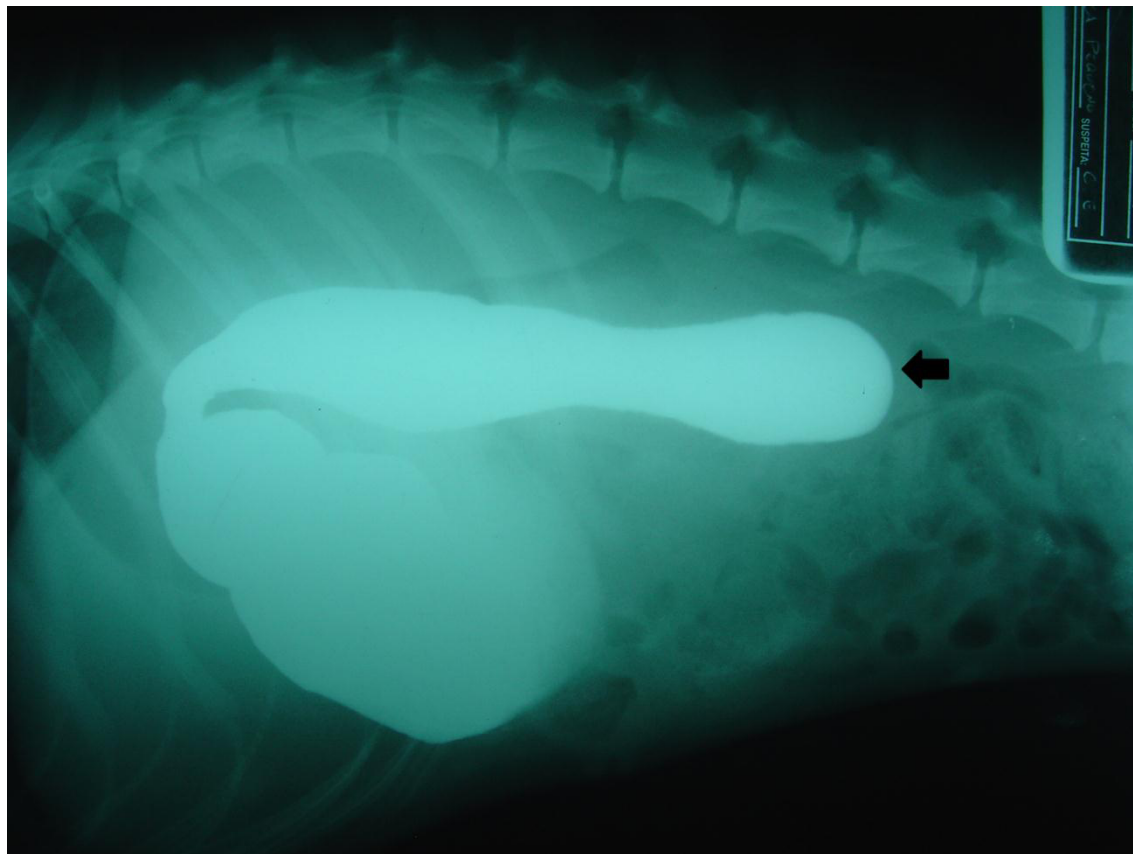


Figura 1 - Pitiose intestinal em cão. Raio-X contrastado, vista látero-lateral direita, mostrando o contraste no estômago e na porção inicial do duodeno (seta), sugestivo de obstrução duodenal (caso 01).

Todos os animais foram eutanasiados em decorrência do quadro clínico grave irreversível e, posteriormente encaminhados para a realização da necropsia.

Macroscopicamente, observou-se que os cães 1, 3 e 4 estavam magros e apresentavam as mucosas oculares e oral pálidas. O animal 2 encontrava-se em bom estado corporal, com área tricotomizada na região ventral do abdômen e sem a cauda (Figura 2).



Figura 2 - Pitiose cutânea em cão. Observa-se cão sem cauda e com áreas irregulares de alopecia, focalmente extensa e áreas multifocais a coalescentes ulceradas (seta) na região perianal e sacral (caso 02).

As lesões macroscópicas observadas durante a necropsia dos animais tinham características semelhantes, variando apenas a localização.

No caso 1, verificou-se aumento de volume irregular de aproximadamente 7 cm de diâmetro, envolvendo serosa do duodeno, pâncreas, linfonodos mesentéricos e pancreáticos (Figura 3A e B). Havia dilatação na porção inicial do duodeno, com espessamento da parede por áreas amareladas entremeadas por áreas esbranquiçadas, envolvendo a camada muscular e serosa (Figura 3C), que causava estenose da luz intestinal. Ao corte a massa se apresentava firme, com áreas multifocais a coalescentes granulares amareladas e irregulares, circundadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante, entremeadas por áreas amarronzadas (Figura 3D).

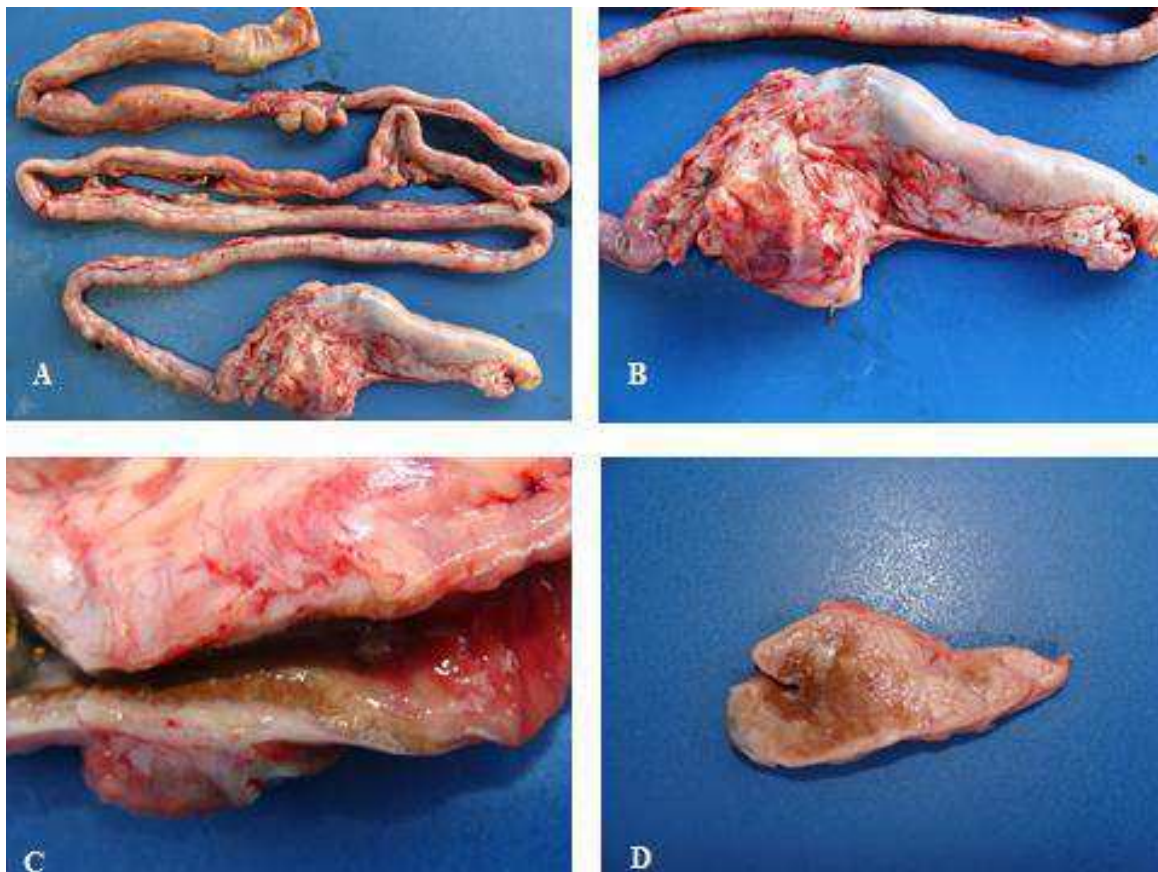


Figura 3 - Pitiose intestinal em cão (caso 01). A - Massa irregular envolvendo a serosa do duodeno, pâncreas e linfonodos pancreático e mesentérico. B - Foto aproximada da figura A, mostrando aumento de volume no polo caudal do pâncreas. C - Espessamento da parede do duodeno, com áreas amareladas irregulares na superfície de corte. D - Corte transversal do duodeno, áreas multifocais a coalescentes granulares amareladas e irregulares, circundadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante, entremeadas por áreas amarronzadas.

No caso 2, a lesão cutânea apresentava área focalmente extensa de alopecia e ulcerações multifocais irregulares, algumas contendo pequenas cavitações com secreção serosanguinolenta, se estendendo da região dorso-caudal a sacral (Figura 4A). Ao corte, havia espessamento do subcutâneo contendo áreas multifocais a coalescentes amareladas, levemente granulares, variando de 0,2 a 0,3 cm de diâmetro, circundadas por tecido esbranquiçado e firme, entremeadas por áreas avermelhadas que se estendiam a musculatura adjacente e porção final do reto e ânus, causando espessamento da parede intestinal de aproximadamente 20 cm de extensão (Figura 4B e C). Ao corte transversal do reto havia espessamento da parede intestinal contendo áreas amareladas multifocais a coalescentes irregulares, entremeadas por tecido esbranquiçado liso e brilhante na submucosa e muscular, causando estenose da luz (Figura 4D).

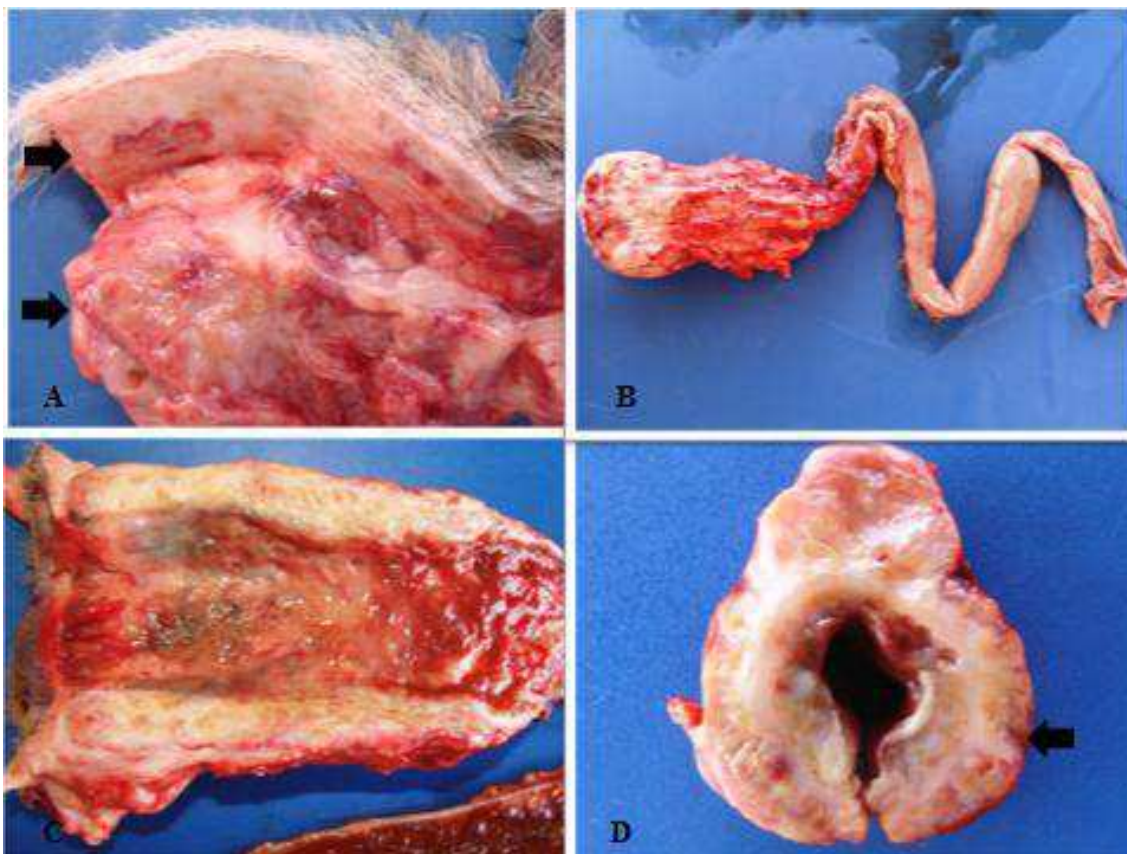


Figura 4 - Pitiose cutânea e intestinal em cão (caso 02). A - Espessamento da pele e do subcutâneo com áreas multifocais a coalescentes amareladas entremeadas por tecido esbranquiçado (setas). B - Aumento de volume se estendendo do ânus a porção final do reto. C - Observa-se espessamento da parede intestinal com áreas amareladas irregulares. D - Superfície de corte transversal do reto apresentando espessamento da parede intestinal, com áreas multifocais amareladas e estenose da luz (seta).

No caso 3, observou-se aumento de volume na região perianal, com áreas multifocais de ulcerações entremeadas por áreas avermelhadas e amareladas. Na porção final do reto, observou-se dilatação e estenose da luz por espessamento da parede do intestino (Figura 5A). A parede do reto apresentava-se com áreas multifocais amareladas variando de 0,1 a 0,5 cm, entremeadas por áreas esbranquiçadas e amarronzadas, envolvendo todas as camadas (submucosa, muscular e serosa) e na serosa havia elevações nodulares, que se estendiam a região de glândula perianal. Na vagina observou-se na mucosa área focalmente extensa irregular e elevada, com áreas avermelhadas entremeadas por áreas amareladas discretas (Figura 5B). Nos linfonodos inguinais também foram observadas áreas multifocais semelhantes.

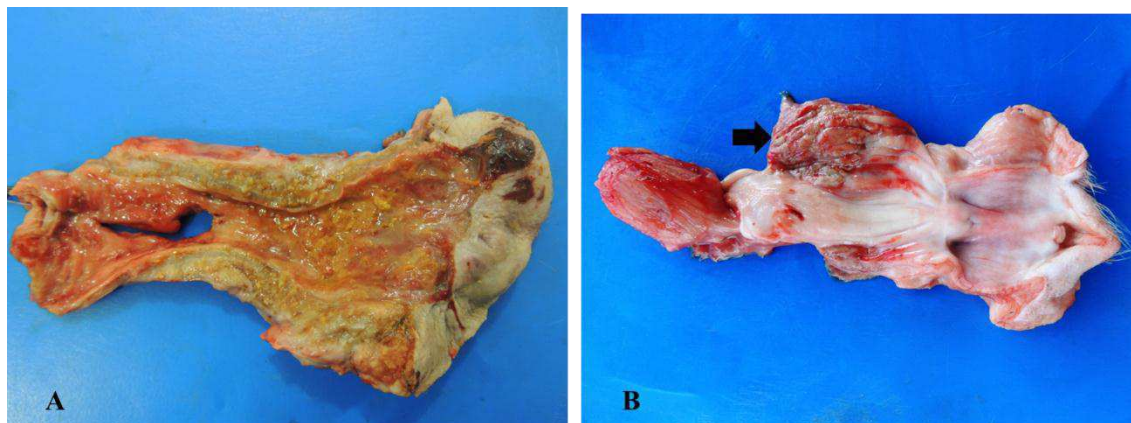


Figura 5 - Pitiose intestinal e vaginal em cão (caso 03). A - Espessamento da parede do reto e ânus. B - Observa-se na mucosa da vagina área focalmente extensa irregular e elevada, com áreas avermelhadas entremeadas por áreas amareladas discretas (seta).

No caso 4, observou-se líquido serossanguinolento na cavidade abdominal. Havia aumento de volume envolvendo a serosa do intestino delgado, pâncreas e linfonodos pancreático (Figura 6A) e mesentéricos, além da região caudal da superfície capsular do fígado e omento adjacente, com múltiplas áreas de aderências. Na porção inicial do duodeno havia espessamento da parede de aproximadamente de 22 cm de extensão, com diminuição da luz. Ao corte, apresentava-se firme com áreas multifocais amareladas entremeadas por áreas esbranquiçadas e algumas cavitações focais avermelhadas (Figura 6B). No fígado havia ainda difusa acentuação do padrão lobular.

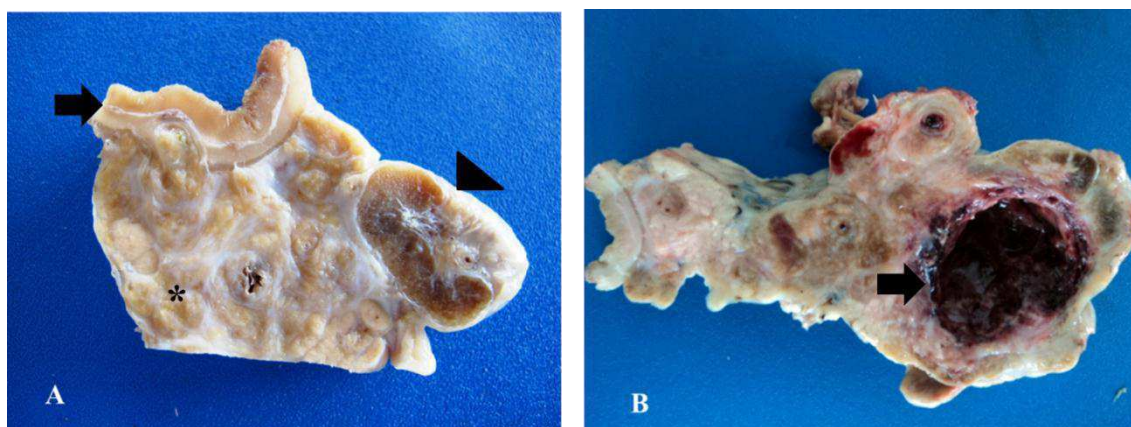


Figura 6 - Pitiose intestinal em cão (caso 04). A - Observa-se aumento de volume na serosa do intestino delgado (seta), pâncreas (*) e linfonodo pancreático (cabeça da seta). B - Observa-se massa com áreas irregulares amareladas entremeadas por áreas amarronzadas e cavitações com conteúdo avermelhado (seta).

Microscopicamente, havia granulomas multifocais a coalescentes, por vezes difusos, caracterizados por áreas centrais de necrose, circundados por infiltrado inflamatório contendo neutrófilos, muitos degenerados e mais na periferia macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas, linfócitos e plasmócitos e discreta proliferação de tecido conjuntivo fibroso (Figura 7A). Associado a essas áreas foram observadas estruturas tubuliformes em cortes longitudinais ou transversais, não coradas, características de hifas (Figura 7B). As hifas eram observadas nas áreas de necrose, livres e no citoplasma de células gigantes (Figura 7C e D). Nos casos 1 e 4 havia ainda vasculite e necrose fibrinoide acentuada, por vezes formando trombos.

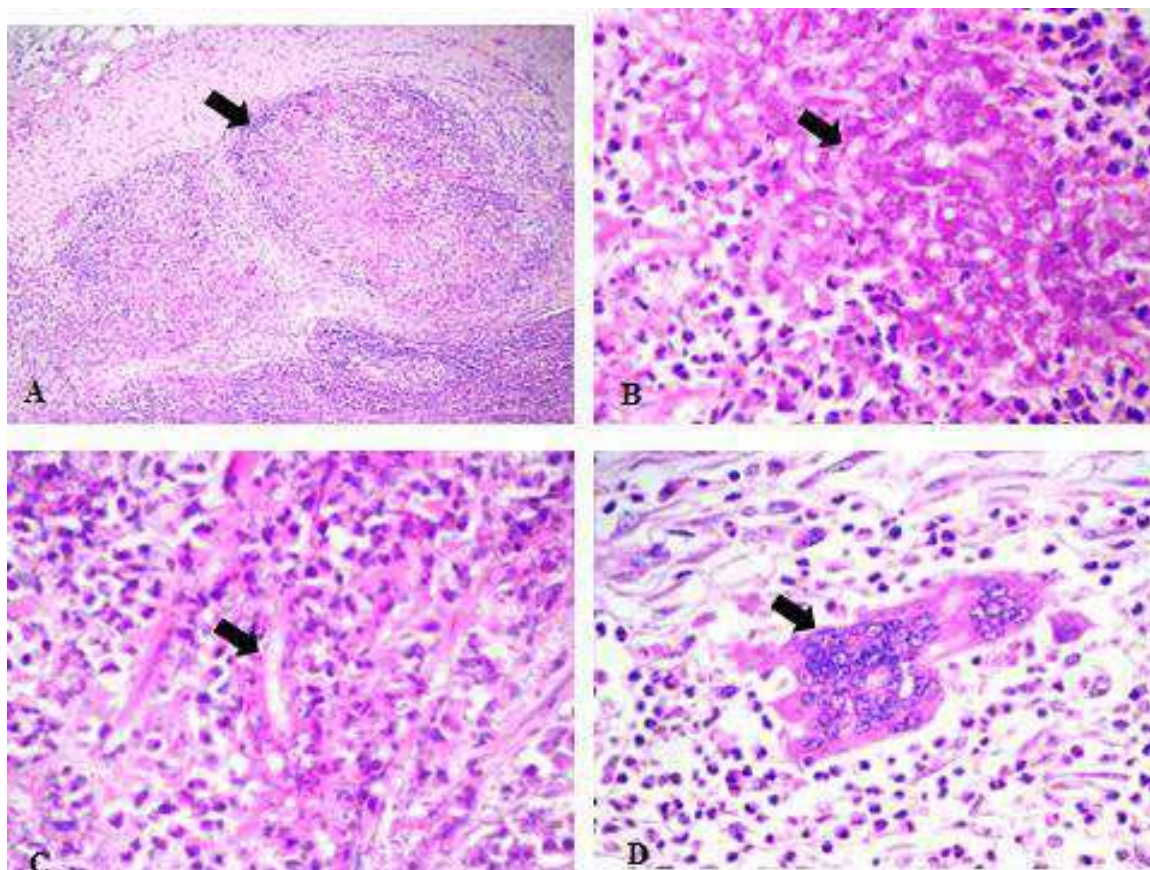


Figura 7 - Pitiose em cão. A - Granuloma com área central de necrose. HE, Obj. 10x. B - Observam-se miríades de estruturas tubuliformes não coradas em cortes transversais e longitudinais, semelhantes a hifas (seta). HE, Obj. 20x. C - Foto B em maior aumento HE, Obj. 40x. D - Observa-se célula gigante contendo hifas não coradas no citoplasma. HE, Obj. 40x.

Havia envolvimento intestinal das camadas muscular e serosa em três casos (Casos 1, 2 e 3), em um caso havia também o envolvimento da submucosa (Caso 2) e no caso 4

havia comprometimento apenas da serosa. Na vagina (Caso 3) a lesão ocorreu de forma transmural.

Nos linfonodos afetados, havia comprometimento desde a cortical a medular (Caso 1), e somente a superfície capsular (Caso 4). No caso 4 a lesão também afetava a superfície capsular do fígado.

No pâncreas (casos 1 e 4), a lesão ocorreu de forma dissecante entre os ácinos pancreáticos.

No caso 2, a lesão cutânea apresentava o envolvimento da derme à região de panículo, com áreas multifocais de hemorragia. Por vezes se estendendo ao subcutâneo e musculatura adjacente, com necrose muscular, neovascularização e fibroplasia. Havia ainda ulceração e necrose da epiderme associado a neutrófilos.

No caso 3, havia também envolvimento da região perianal, afetando desde a derme superficial ao panículo, de forma dissecante entre glândula perianal e musculatura adjacente. Áreas multifocais de ulceração, necrose e hemorragia, associada a neutrófilos, muitos degenerados da epiderme.

Nas secções histológicas impregnadas pela prata de Grocott as hifas foram fortemente coradas, de coloração preta, sendo observadas imagens tubuliformes, formando ângulos retos (Figura 8A). No PAS as paredes das hifas foram fracamente coradas em rosa (Figura 8B). A imuno-histoquímica realizada nas secções histológicas selecionadas de cada caso houve forte imunomarcção para *Pythium insidiosum*, com hifas imunomarcadas em marrom (Figura 8C). Por vezes foram observadas a imunomarcção das hifas intravascular.

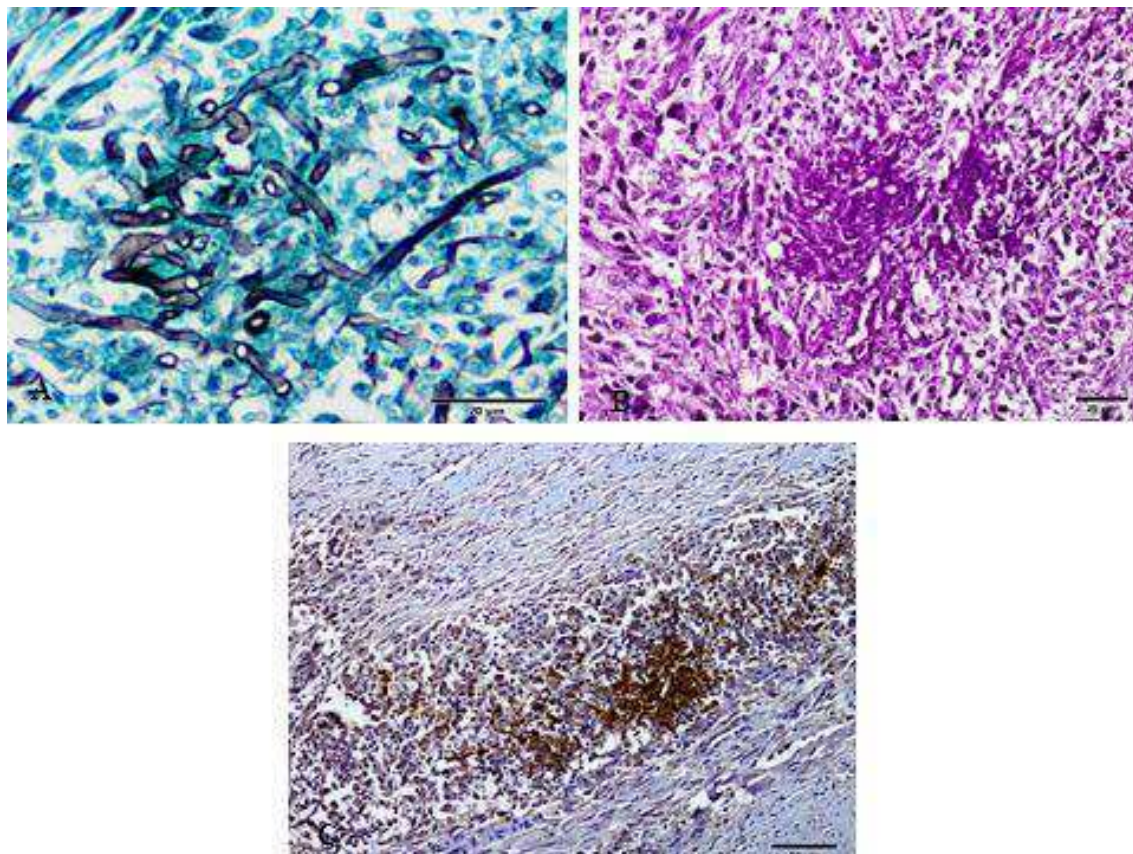


Figura 8 - Pitiose em Cães. A - Observam-se hifas fortemente coradas em preto pela técnica de GMS. Obj. 20x. B - Pelo PAS observam-se hifas fracamente coradas em rosa. Obj. 20x. C - Pela imunohistoquímica observou-se imunomarcção fortemente positiva em marrom para *Pythium insidiosum*. Obj. 20x.

5 DISCUSSÃO

O diagnóstico de pitiose nos quatro casos foi realizado através dos achados epidemiológicos, clínicos e patológicos característicos da doença e confirmado pela imuno-histoquímica.

Na região semiárida do Nordeste a ocorrência da doença em cães foi de 0,38%, sendo observados, quatro casos durante quatro anos. Ao se comparar este levantamento com estudos realizados por Fischer et al., 1994 em Missouri, Estados Unidos, Mendoza et al., 2005 na Venezuela e Berryessas et al., 2008 na Califórnia, observa-se que a doença tem uma morbidade que variável. Onde em Missouri, durante cinco anos ocorreram cinco casos na Venezuela o primeiro relato foi em 2003, e na Califórnia em três anos ocorreram 10 casos. Para a região Nordeste este 0,38% provavelmente está relacionado ao fato de que esporadicamente os cães criados em zona urbana são levados à zona rural, tendo assim, pouco acesso a áreas alagadas, como açudes e barragens. Já os cães da zona rural, que teoricamente teriam maior exposição a áreas contaminadas pelo agente e consequentemente uma maior ocorrência da doença, até o presente momento não foram diagnosticados com pitiose. Acreditando-se que isso pode ser justificado pela falta da procura a assistência médica veterinária, ou os animais morrerem e não serem submetidos a serviços de diagnóstico especializado.

Miller (1983), porém o mesmo afirma uma maior ocorrência em cães machos de grande porte, fato não observado neste trabalho, já que os cães na sua maioria eram fêmeas e 50% era de pequeno porte, mostrando que não há relação da doença com sexo e porte como já foi relatado por Fischer et al., (1994). Também foi visto que apenas um cão não teve contato com zona rural, porém o mesmo bebia apenas água de poço. Mendoza, Ajelle e McGinnis (1996), Mendoza e Newton (2005), afirmam a necessidade do contato de animais com ambientes com água ou áreas úmidas contaminadas com o *Pythium insidiosum* para a ocorrência da infecção. O que pode ter ocorrido com o cão que não tinha acesso a zona rural é que provavelmente a água oferecida ao animal estava contaminada com a forma infectante do agente.

A forma intestinal (3/4) foi a mais comumente observada neste estudo, o que corrobora com outros autores (RECH, GRAÇA e BARROS, 2004; RODRIGUES et al., 2006; BERRYESSA et al., 2008; PEREIRA et al., 2010). Destes, dois chamaram atenção pela forma extensiva da enfermidade, considerada rara. Rech, Graça e Barros, (2006) e

Pereira et al., (2010) descreveram casos semelhantes a este, porém nos casos citados pelos mesmo, levantou-se a suspeita de que os animais tenham se infectado pelas duas vias cutânea e entérica, já no caso aqui descrito pode se notar a expansão da lesão cutânea para a porção final do intestino. O caso 3 apresentou uma forma reprodutiva, a lesão foi observada na vulva e vagina ocorreu por extensão do sistema entérico para o reprodutor, sendo bastante semelhante a forma gastrointestinal e cutânea. Jaeger, Rotstein e Law, (2002) relataram a forma prostática em um cão na Carolina do Norte, não havendo relatos até o momento da forma reprodutiva.

A vasculite observada em dois casos é descrita raramente em cães com pitiose gastrintestinal (PATTON et al., 1996; HELMAN e OLIVER 1999), mas esse tipo de lesão vascular é a principal alteração encontrada em humanos, vista em 59% dos casos, resultando em oclusão arterial e conseqüentemente aneurisma (IMWIDTHAYA, 1994; KRAJAEJUN et al., 2006). A pancreatite também verificada nesses casos já tinha sido descrita por Fischer et al., (1994) e Trost et al., (2009) e acredita-se que isso ocorra por extensão direta da lesão primária intestinal ou por disseminação hematológica, já que existia envolvimento de vasos sanguíneos e a presença de hifas na parede e na luz de vasos.

O envolvimento hepático verificado em apenas um caso, ainda não tinha sido descrito em cães, mas lesão semelhante já foi observada em equino por disseminação hematológica (AMARA et al., 2013), e nesse caso acredita-se que por extensão da lesão possa ter ocasionado a peri-hepatite.

O diagnóstico foi realizado através dos aspectos macroscópicos e histológicos das lesões e confirmado através da imuno-histoquímica, já que este é um método eficaz e vantajoso, podendo ser aplicado sobre tecidos parafinados, permitindo o diagnóstico quando a cultura ou o soro não estão disponíveis ((Brown et al.1988; GROOTERS, 2002). Apesar dos casos de pitiose em cães no semiárido ter representado apenas 0,38% dos animais necropsiados, ela deve ser considerada como diagnóstico diferencial das doenças gastrointestinais e cutâneas de aspecto inflamatório, proliferativo e nodular.

6 CONCLUSÕES

Através deste estudo pode-se concluir que:

A pitiose é uma doença que ocorre esporadicamente em cães no semiárido nordestino, havendo uma maior ocorrência da forma intestinal, seguida da forma cutânea, diferente do que acontece com equinos que é a espécie mais acometida.

A lesão primária poderá se estender para outros órgãos adjacentes, além de disseminação por vasos, dependendo da forma clínica da doença.

A doença apresenta uma mortalidade de 100%, sendo de extrema importância o diagnóstico precoce e diferencial das doenças gastrintestinais de aspecto proliferativos, que cursam com estenose parcial ou total do trato digestivo e de lesões cutâneas ulcerativas, semelhantes a lesões inflamatórias ou neoplásicas.

7 REFERÊNCIAS

ADRIANE L., GABRIEL, GLAUCIA D., KOMMERS, MARIA E., TROST, CLAUDIO S.L., BARROS, DANIELA B., PEREIRA, STELA E., SCHWENDLER E JANIO M., E SANTURIO. **Surto de pitiose cutânea em bovinos**. Pesquisa. Veterinária. Brasileira. ed.28, v.12, p. :583-587, 2008

ALEXOPOULOS C.J., MIMS C.W. e BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. New York. ed. 4, p. 683-737, 1996.

AMARAL L.A. et al., **Relato de pitiose equina com envolvimento visceral**. A Hora Veterinária – V. 32, ed. 192, Pg. 32 – 35, 2013.

BENTINCK., PADHYE A. A., MASLIM W. R., HAMILTON C., MCDONALD R. e WOODY B. **Canine pythiosis-isolation and identification of *Pythium insidiosum***. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. ed. 1, Pg. 295-298, 1989. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2488713>. maio 2014

BERRYESSA N.A., MARKS S.L., PESAVENTO P.A., KRASNANSKY T., YOSHIMOTO S.K., JOHNSON E.G., e GROOTERSA.M. **Gastrointestinal Pythiosis in 10 Dogs from California**. Brief Communication. Journal Veterinary Internal Medical. ed.22, p.1065–1069, 2008.

BUERGELT, C., POWE, J., WHITE, T., **Abdominal pythiosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris*)**. J. Zootecnia Wildl. Medicine. ed. 37, pag.186–189. 2006. Disponível em <http://www.jstor.org/discover/10.2307/20096581> maio 2014.

CAMUS, A.C., GROOTERS, A.M., AQUILAR, R.F., **Granulomatous pneumonia caused by *Pythium insidiosum* in a central American jaguar, *Panthera onca***. J. Vet. Diagnostic Investic.. ed.16, pag.567–571. 2004. Disponível em: <http://vdi.sagepub.com/content/16/6/567.full.pdf>, Fevereiro, 2013.

CANEDO, I. F. **Aspectos gerais e morfológicos de *Pythium* sp.**. Estudos em doenças de plantas – Instituto Federal Goiano Câmpus Urutaí. 2010. Disponível em: http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/11/aspectos-gerais-e-morfologicos-de_6193.html. Fevereiro 2013.

CARVALHO, E.C.Q., ROSA, C.A.R., CRUZ, L.C.H., et al. **“*Hyphomyces destruens*” agente da “ferida brava” (hifomicose) em equinos do pantanal de Mato Grosso do Sul**. Congresso brasileiro de medicina veterinária, Cuiabá, MT. anais. Cuiabá: sociedade de veterinária do Mato Grosso, p.311. 1984.

DYKSTRA M.J. et al., **A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs.** Medical Mycology. ed.37, p.427-433, 1999. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647124>> maio 2014

ESTRADA-GARCIA, M.T., CALLOW, J.A., GREEN, J.R., **Monoclonal antibodies to the adhesive cell coat secreted by *Pythium aphanidermatum* zoospores recognize 200 - 300Mr glycoproteins stored within large peripheral vesicles.** Journal of Cell Science. ed.95,pag.199–206,1990.Disponível em: <http://eurekamag.com/research/007/566/monoclonal-antibodies-adhesive-cell-coat-secreted-pythium-aphanidermatum-zoospores-recognize-200x-103-molecular-volume-glycoproteins-stored-big-peripheral-vesicles.php>

FISCHER J. R. et al., **Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. vol.1, ed.6, p.380-382, 1994.Disponível em <http://vdi.sagepub.com/content/6/3/380.full.pdf> maio 2014.

FOIL C.S.O. SHORT B.G., FADOK V.A. & KUNKLE G.A. **A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium* spp.** Journal of the American Animal Hospital Association. ed. 20, p.959-966, 1984.

FOIL C.S. **Update on Pythiosis (Oomycosis).** The North American Veterinary Conference. vol.10, ed.23, p.57-63, 1996.Disponível em: <http://openagricola.nal.usda.gov/Record/IND21963017> > maio 2014.

GAASTRA, W., Lipman L. J. A., Cock W.A.M., Tim K., RAYMOND B.G., PEGGE, SCHEURWATER J., VILELA R., MENDOZA L.. ***Pythium insidiosum*: an overview.** Veterinary Microbiology, Holanda. v. 146, n. 1-2, p. 1-16, 2010

GONZALEZ, H.E., RUIZ, A., **Espundia equina: etiologia y patogenesis de una fomicosis.** Revista ICA Bogota, Colombia. ed.10, p. 175, 1975. Disponível em: www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/IsisScript=BAC.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=002159> maio 2014.

GROOTERS A.M., **Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals.**Disponível em: The Veterinary Clinics Small Animal Practice. edi.33: pg.695-720, 2003

GROOTERS, A. M.; FOIL, C. S. O. **Micellaneous Fungal Infections. In: Greene, C. E. (Ed). Infectious diseases of the dogs and cats.** St Louis: Saunders, ed. 3. p. 637-650, 2006

HELMAN R.G. e OLIVER J., **Pythiosis of the digestive tract in dogs from Oklahoma.**Journal of the American Animal Hospital, ed.35, p.111-114. 1999

HENSEL, P., GREENE, C. E., MEDLEAU L., **Immunotherapy for treatment of multicentric cutaneous pythiosis in a dog.** Journal of the American Animal Hospital Association, Estados Unidos, v. 223, n. 2, p. 215-218. 2003

HUNNING P. S., Rigon G., Faraco, C.S. Pavarini S.P., Sampaio D., Beheregaray W., e Driemeier, D. **Obstrução intestinal por *Pythiuminsidiosum* em um cão: relato de caso.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia., v.62, n.4, p.801-805, 2010.

IMWIDTHAYA, P., **Human pythiosis in Thailand.** Journal Postgraduate Medici. E. 70, p. 558–560. 1994. Disponível em: <http://pmj.bmj.com/content/70/826/558.full.pdf> maio 2013
 JAEGER G. H., ROTSTEIN D. S., E LAW J. M. **Prostatic Pythiosis in a Dog.** Journal Veterinário Internacional Medico. ed.16. p. 598–602. 2002.

KRAJAEJUM T. et al., **Development and evaluation of an in house enzyme-linked immunosorbent assay for early diagnosis and monitoring of human pythiosis.** Clinical Diagnostic Laboratory of Immunology. Ed.9, p.378-382, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC119942/>

KRAJAEJUN T., SATHAPATAYAVONGS B., PRACHARKTAM R., NITIYANANT P., LEELACHAIKUL P., WANACHIWANAWIN W., CHAI PRASERT A., ASSANASEN P., SAIPETCH M., MOOTSIKAPUN P., CHETCHOTISAKD P., LEKHAKULA A., MITARNUN W., KALNAUWAKUL S., SUPPARATPINYO K., CHAIWARITH R., CHIEWCHANVIT S., TANANUVAT N., SRISIRI S., SUANKRATAY C., KULWICHIT W., WONGSAISUWAN M., SOMKAEW S.. **Clinical and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand.** Clinical Infectious Diseases, Estados Unidos, v. 43, p. 569–576. 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16886148> fevereiro 2013.

KROCKENBERGER M.B., SWINNEY G., MARTIN P., ROTHWELLA T.R.L., E MALIK R. **Sequential opportunistic infections in two German Shepherd dogs.** Case Report and Clinical Review. Australian Veterinary Journal V. 89, p. 1–2, 2011.

LARSSON C.E. LUCAS, R.; GERMANO, P.M.L., **Pitiose canina** – Aspectos clínicos e epidemiológicos de caso em São Paulo. In: XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (Gramado, Brasil) p.155. 1997.

LÉO, V.F., DABUS., LOT R.F.E., PICCININ A.. **Pitiose em equinos.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano VI, n. 10. 2008

LILJEBJELKE K.A. K, ABRAMSON C. BROCKUS C. CRAIG e GREENE. **Duodenal obstruction caused by infection with *Pythiuminsidiosum* in a 12-week-old puppy.** Journal of the American Veterinary Medical Association. ed. 220, p.1188-1191, 2002

MARQUES S.A, BAGAGLI E., SANDRA M. G., BOSCO ROSANGELA M. P., CAMARGO, MARIANGELA E., e A. MARQUES., ***Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil.** Anais Brasileiro de Dermatologia N° 5, v. 81, p.483-485. 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962006000500012 fevereiro 2013.

MEIRELES, M.C.A; RIET-CORREA, F; FISCHMAN, O. et al., **Cutaneous pythiosis in horses from Brazil**. Mycoses. v.36, p.139-142. 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8366878>. maio 2013.

MENDOZA, L., ALFARO, A.A., **Equine pythiosis in Costa Rica: report of 39 cases**. Mycopathologia. ed.94, p.123–129. 1986. Acessado em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00437377#page-1> fevereiro 2013.

MENDOZA L., HERNANDEZ F. e AJELLO L. **Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythiuminsidiosum***. Journal of Clinical Microbiology. ed.3, pag. 2967-2973. 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC266174/pdf/jcm00023-0141.pdf> maio 2013.

MENDOZA, L.; AJELLO, L e MCGINNIS, M. R. **Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythiuminsidiosum***. Journal de Mycologie Médicale, Holanda, v. 6, n. 4, pag. 151-164. 1996. Disponível em: <http://eurekamag.com/research/002/870/infections-attributable-oomycetous-pathogen-pythium-insidiosum.php>

MENDOZA L.; MANDY W. e GLASS, R. **An improved *Pythiuminsidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis**. Vaccine. ed.21, p.2797-2804. 2003.

MENDOZA, L.; NEWTON, J.C. **Immunology and immunotherapy of the infections caused by *Pythiuminsidiosum***. Medical Mycology. v. 43, p. 477-486. 2005. Disponível em: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/13693780500279882>. fevereiro 2013.

MENDOZA et al., **Intestinal canine pythiosis in Venezuela confirmed by serological and sequencing analysis**. Mycopathologia. Ed.159, p 219-222. 2005. Acessado em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11046-004-6618-3#page-1> fevereiro 2013.

MILLER, R.I., **Granulomatous and neoplastic disease of equine skin**. Veterinary Reviews and Monographs James Cook University of North Queensland, Townsville, Australia, No. 6. p. 1–92. 1983. Disponível em : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-0813.1978.tb02484.x/pdf> fevereiro 2013.

MONTEIRO A.B. **Imunoterapia da pitiose equina: teste de eficácia de um imunobiológico e avaliação leucocitária em animais infectados naturalmente pelo *Pythiuminsidiosum***. Faculdade de Santa Maria, RS, Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria. 1999.

MORAL, M.S., BINDER, C., JULY, J.R., et al. **Pitiose cutânea em equinos**. Saúde Equina, I, n.3, p.14-16. 1997.

MURDOCH, D., PARR, D., *Pythiuminsidiosum* keratitis. Aust. N.Z. J. Ophthalmol. 25, p.177–179. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9267609>> maio de 2014.

NÓBREGA D.F., SILVA A.B.J., CALEFFO T., TERUYAE C. S. e VIOTT A. M. **Pitiose intestinal em cão** – relato de caso. Revista cães e gatos. n° 169. p.14–16. 2013. Disponível em: <http://www.revistacaesegatos.com.br/pub/curuca/index2/numero=169> . fevereiro 2014.

PARENTONI R. N. **Estudo retrospectivo das ocorrências de pitiose em equídeos atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba.** Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/404.pdf> maio 2012.

PATTON C. S., HAKE R., NEWTON J., e TOAL R. L. **Esophagitis due to *Pythium insidiosum* infection in two dogs.** J VetInternMed; 1996. 10: 139-142

PAULINE M., RAKICH, AMY M., GROOTERS, KAI-NING T. **Gastrointestinal pythiosis in two cats.** J Veterinari Diagnostic Investic v.17, p. 262–269. 2005.

PAVARINI, S.P. et al. **Diagnóstico imunistoquímico de pitiose intestinal em um canino.** In: Encontro Nacional de Patologia Veterinária, XIII, Campo Grande. Anais.Campo Grande: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UFMT , p. 149-150. 2007. CD ROOM.

PENSAVENTO, P. A. et al. **Cutaneous pythiosis in a nestling white-faced ibis.** VeterinaryPathology, Estados Unidos, v. 45, p. 538 – 541, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18587102> março 2013.

PEREIRA, D. I. B.,SCHILD A.L., MOTTA M.A., FIGHERA R.A., SALLIS E.S.V. e PEREIRA M. **Cutaneous and gastrointestinal pythiosis in a dog.** Veterinary Research Communications, Holanda, v. 34, p. 301-306. 2010.

RAKICHI P. M., GROOTERS A. M., TANG K.N. **Gastrointestinal pythiosis in two cats.** J Vet Diagn Invest. ed.17, p. 262-269. 2005.

RAVISHANKAR J.P. DAVIS C.M. DAVIS D.J. MAC DONALD E. MAKSELAN S. MILLWARD L. e MONEY,N,P. **Mechanics of solid tissue invasion by the man Malian pathogen *Pythium insidiosum*.** Fungi. Genet. Boil. ed.34, p. 167-175. 200.1

RECH R.R; GRAÇA D.L e BARROS C.L.S. **Pitiose em um cão.** Relato de caso e diagnóstico diferenciais. Revista Clínica Veterinária.v.50, p.68-72. 2004.

RIVIERRE C. LAPRIE C., MARIGNY O. G., BERGEAUD P., BERTHELEMY M., e GUILLO J. **Pythiosis in Africa Emerg.** Emerging Infectious Diseases. V. 11, p.479 - 481. 2005.

RODRIGUES A., GRAÇA D.L., FONTOURA C., CAVALHEIRO A.S., HENZEL A., SCHWENDLER S.E., ALVES S.H., SANTURIO J.M., **Intestinal dog pythiosis in Brazil.** Journal Mycologie Médica.vol.16, p. 37-41. 2006.

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

SANTURIO JM., ALVES S. H., PEREIRA D. B E ARGENTA J.S. **Pitiose uma micose emergente (Pythiosis: na emergent mycosis).** Acta Scientiae Veterinariae. 34. p.1 - 14. 2006.

STRAGLIOTTO A. PIRES M.A.M., PRESSER C.I., UBIALI D. G., COLODE E. M. E PESCADOR C.A. **Enterite granulomatosa por *Pythium insidiosum* em cão.** Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/601.pdf>, fevereiro 2014.

SOHN Y. S., KIM D. Y, KWEON O. K., SEO B..**Entericpythiosis in a Jindo dog.** Korean Journal of Veterinary. Research. v.36, P.447-451, 1996 Disponível em: <http://www.eurekamag.com/reseach/002/828/002828892.php>, fevereiro 2014

TABOSA, I.M., MEDEIROS, V.T., DANTAS, A.F.M., et al. **Pitiose cutânea em equídeos no semi-áridoda Paraíba.** Arq Bras Med Vet Zoot, v.51, p.27-30.1999.

THITITHANYANONT A. et al., **Use of an immunogenic therapeutic vaccine to treat a life-threatening human arteritic infection caused by *Pythium insidiosum*.** Clinic. Infectit. ed. 21, p.1394-1400. 199.

TRINDADE A. L. LEAL A. B. M., FLORES E. F., SANTURIO J. M., **Pitiose.** In: Ciência Rural v.31 n°.4 Santa Maria 2001. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.phppid=s010384782001000400029&script=sciarttext>. Acesso 24 de abril de 2013.

TROST M.E., et al., **Aspectos clínicos, morfológicos e imuno-histoquímicos da pitiose gastrointestinal canina.** Pesquisa Veterinária Brasileira. v.29, ed.8. p. 673 - 678. 2009.