

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**LISANKA ÂNGELO MAIA**

**DOENÇAS FÚNGICAS EM BOVINOS E ASININO**

**PATOS-PB**

**LISANKA ÂNGELO MAIA**

**DOENÇAS FÚNGICAS EM BOVINOS E ASININO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária.

**Prof. Dr. Antônio Flávio M. Dantas**  
**Orientador**

**PATOS-PB**  
**2016**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

5M217d

Maia, Lisanka Ângelo

Doenças fúngicas em bovinos e asinino / Lisanka Ângelo Maia. – Patos, 2016.  
74f.: il. Color.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

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

Referências.

1. Micoses. 2. *Pythium insidiosum*. 3. Bovino. 4. Asinino. I. Título.

CDU 616:619

**LISANKA ÂNGELO MAIA**

**DOENÇAS FÚNGICAS EM BOVINOS E ASININO**

Aprovada em \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas - Orientador  
Universidade Federal de Campina Grande - Campus de Patos  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária

---

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros  
Professor Titular aposentado da Universidade Federal de Santa Maria - RS  
Professor Visitante na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

---

Prof. Dr. Luciano da Anunciação Pimentel  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - CCAAB

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Tatiane Rodrigues da Silva  
Universidade Federal de Campina Grande-Campus de Patos  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Verônica Medeiros da Trindade Nobre  
Universidade Federal de Campina Grande-Campus de Patos  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária

**Dedicatória**

*A Deus e a minha família!*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que tem sido o autor de todas as minhas conquistas, por abençoar o meu caminhar, me presenteando com as oportunidades, capacitando-me e fortalecendo nas minhas escolhas e decisões. Ele toda honra e glória!

Aos meus pais, Maria Lúcia Ângelo Maia e Antônio Forte Maia, a minha gratidão por anos de amor, dedicação, carinho e por não medir esforços para me proporcionar o melhor. Vocês serão sempre o meu alicerce, motivos do meu orgulho e força para continuar lutando. Amo vocês!

Aos meus avós maternos, Joaquim Ângelo da Silva (*in memoriam*) e Francisca Guedes da Silva (*in memoriam*) pelos valores e ensinamentos, por estarem presentes nas minhas melhores recordações.

Aos professores do LPA, Franklin Riet-Correa, Antônio Flávio Dantas, Verônica Medeiros da Trindade Nobre e Rosane Medeiros, pela oportunidade que me deram na pesquisa, pelo apoio à docência, ensinamentos, paciência, e principalmente, pelo vínculo de amizade e confiança.

Aos pós-graduandos do LPA (Clarice, Luciano, Glauco, Allan, Rachel, Diego, Rômulo, Ewerton, Fernando, Carlos, Jeann, Fabrício, Eduardo, Robério, Jefferson, Millena, Aline, Édipo e Platinir), residentes (Danilo, Rodrigo, Ismael e Telma) e graduandos (Jussara e Raquel) pelos anos de aprendizado, conhecimentos compartilhados, amizade e companheirismo. Muito obrigada!

Ao professor Antônio Flávio a minha gratidão, pelos anos de orientação, exercidos de forma tão particular, sempre procurando entender as particularidades e respeitando os limites, iluminando cada dia com sua alegria, otimismo e forma de ensinar patologia. Obrigada professor, pelos ensinamentos, confiança, amizade, incentivo e pelo acolhimento de filha que recebi.

A Maria da Neves Gadelha, por todo amor, que tem sido traduzido em forma de gestos e cuidados. Sou grata a Deus por sua amizade.

Aos amigos que a pós-graduação me deu, Gildeni, Beatriz, Ana Luisa, Renato, Atticus, antes desconhecidos, agora pessoas que jamais esquecerei, por todos os momentos de aprendizado e diversão. Em especial a Luedja, Tatiane e Adriana, pelo apoio e acolhimento nesses últimos meses.

A professora Glaucia e a todos que fazem o Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Santa Maria, pelo acolhimento, confiança e colaboração no desenvolvimento dessa pesquisa. Muito obrigada !

Aos colegas de trabalho e amigos, em especial Vinicius, Thais, Ana Lucélia, Suely, Luis Eduardo e Adílio, por compartilharem comigo o início de uma carreira e ciclo de vida no Instituto Federal da Paraíba (IFPB), obrigada pelo apoio e incentivo.

Aos estagiários do Laboratório de Patologia Animal do IFPB, pela ajuda, compreensão e por assumir com responsabilidade as atividades do laboratório, principalmente quando precisei me ausentar. Muito obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

## RESUMO

Descrevem-se nessa tese três artigos científicos relacionados a doenças fúngicas em bovinos e pitiose em bovinos e asinino no Nordeste Brasileiro. No primeiro capítulo descrevem-se as doenças fúngicas diagnosticadas em bovinos no sertão da Paraíba, Nordeste do Brasil, enfatizando os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos. Para isso, foi realizado um estudo retrospectivo das necropsias de bovinos realizadas no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2015, selecionando os casos suspeitos ou confirmados de doenças fúngicas. Desses protocolos foram colhidas informações de raça, sexo, idade, tempo de evolução da doença, sinais clínicos, localizações das lesões e alterações macroscópicas e microscópicas. O diagnóstico foi estabelecido com base nas características morfológicas do agente utilizando-se as colorações de hematoxilina e eosina (HE), impregnação pela metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS), ácido periódico de Schiff e Azul Alciano, além da realização de imuno-histoquímica (IHQ) para confirmação do agente em alguns casos. De 817 necropsias de bovinos, em 11 foram diagnosticadas doenças fúngicas, representando 1,34% das doenças que acometem bovinos. As infecções fúngicas diagnosticadas em ordem de frequência foram zigomicoses (6 casos), aspergilose (3 casos), candidíase (1 caso) e criptococose (1 caso). Dos seis casos de infecções por zigomicetos, cinco foram classificados como Mucorales e um Entomophthorales. Dos cinco casos de Mucorales, dois apresentaram lesões em vários órgãos, incluindo nos pré-estômagos, abomaso, rins, coração, além do diafragma e do encéfalo. Um caso as lesões estavam restritas ao rúmen, retículo e abomaso e nos outros dois, havia lesões no encéfalo e na pele. No bovino 3, observou-se imunomarcação positiva para *Rhizopus arrhizus* e no bovino 6 para *Conidiobolus lamprageus*. Dos três casos de aspergiloses, um afetava o trato respiratório superior, outro abomaso e um o encéfalo, respectivamente. Em dois casos, a infecção fúngica ocorreu secundariamente a doenças virais primárias como febre catarral maligna e diarreia viral bovina. Um caso de infecção por *Candida albicans* foi diagnosticado em um bezerro de 20 dias de idade, afetando os pré-estômagos, com quadro de imunossupressão provavelmente por utilização de antibioticoterapia e corticoides. Também foi diagnosticado um caso de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* em um bovino com lesões restritas ao encéfalo. No segundo capítulo descrevem-se os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de três casos de pitiose cutânea em bovinos diagnosticados no semiárido dos estados da Paraíba e Ceará e no litoral de Sergipe, Nordeste do Brasil. Os dados epidemiológicos e clínicos foram obtidos durante visitas as fazendas com casos suspeitos da doença. Foi realizada biópsia das lesões de cada animal. A doença ocorreu em bovinos adultos e jovens que tinham contato com água acumulada em açudes ou canais de irrigação. Clinicamente foram observadas lesões principalmente na pele dos membros torácicos e/ou pélvicos, caracterizadas por áreas ulceradas planas e irregulares ou nódulos de tamanhos variados, alguns com tratos fistulados, que ao corte se aprofundavam no tecido subcutâneo. Em um caso havia envolvimento de linfonodos superficiais. Histologicamente verificou-se inflamação piogranulomatosa associada a hifas não coradas pela HE, que foram impregnadas pela GMS. O diagnóstico de *Pythium insidiosum* foi confirmado pela IHQ. No terceiro capítulo descrevem-se os aspectos epidemiológicos, clínico-patológicos, imuno-histoquímico e molecular de um caso de pitiose cutânea em asinino no Brasil. Tratava-se de um asinino, fêmea, adulto, sem raça definida, prenhe que apresentava lesões cutâneas nodulares, multifocais e disseminadas, com 30 dias de evolução. Esse animal era criado em uma área de pasto nativo (caatinga), mas pastejava em área de vegetação verde abundante ao redor de um açude. Macroscopicamente observou-se que os nódulos variavam de 1-11 cm de diâmetro, alguns com superfície ulcerada irregular drenando secreção sanguinolenta e outros recobertos por pele, ambos distribuídos principalmente na pele dos membros, região ventral do peito e glândula mamária. Na superfície de corte, havia discretos nódulos amarelados, multifocais a coalescentes



e ocasionalmente pequenas cavitações com *kunkers* discretos. Microscopicamente havia dermatite e foliculite nodular piogranulomatosa e ulcerativa associada a miríades de imagens negativas de hifas, impregnadas em preto pelo GMS. Através da imuno-histoquímica obteve-se forte imunomarcagem das hifas em marrom e do material em parafina foi extraído o DNA de *Pythium insidiosum*. Após a confirmação do diagnóstico, foi realizada excisão apenas das lesões cutâneas grandes, tratadas como feridas de segunda intenção, que estavam completamente cicatrizadas no trigésimo dia pós-operatório. As lesões cutâneas pequenas regrediram espontaneamente em aproximadamente 60 dias. As infecções fúngicas ocorrem esporadicamente em bovinos com apresentações clínicas e patológicas variadas, e sua ocorrência pode ser influenciada por doenças primárias virais, metabólicas e/ou iatrogênicas. A pitiose cutânea ocorre em bovinos e asinino na região Nordeste, podendo ocorrer cura espontânea dos casos e deve ser incluída no diagnóstico diferencial das dermatopatias nessas espécies.

**Palavras-chaves:** Micoses, *Pythium insidiosum*, bovino, asinino.

## ABSTRACT

This thesis, presented to the Graduate Program of Veterinary Medicine of the Federal University of Campina Grande, is divided into three chapters, each chapter being represented by one scientific article. In the first chapter we describe the fungal diseases in cattle diagnosed in the Sertão of Paraíba, Northeast Brazil, emphasizing the epidemiological, clinical and pathological aspects. For that, a retrospective study of bovine necropsies performed from January 2003 to December 2015 was carried out, selecting suspected or confirmed cases of fungal diseases. From these protocols was collected information on breed, sex, age, time of disease evolution, clinical signs, and lesion of locations, macroscopic and microscopic changes. The diagnosis was established based on the morphotintorial characteristics of the agent, hematoxylin and eosin staining, impregnation by Grocott's methenamine silver nitrate, periodic acid of Schiff and Alcian Blue, as well as Immunohistochemistry to confirmation the agent in some cases. Of 817 bovine necropsies, 11 were diagnosed fungal diseases, representing 1.34%. The fungal infections diagnosed in order of frequency were zygomycosis (6 cases), aspergillosis (3 cases), candidiasis (1 case) and cryptococcosis (1 case). Of the six cases of zygomycetes infections, five were classified as Mucorales and one Entomophthorales. Of the five cases of Mucorales, two presented lesions in several organs, including the pre-stomach, abomasum, kidneys, heart, besides the diaphragm and the encephalon. In one case the lesions were restricted to the rumen, reticulum and abomasum and in the other two, there were lesions in the brain and in the skin. In bovine 3, positive immunostaining was observed for *Rhizopus arrhizus* and in bovine 6 for *Conidiobolus lamprageus*. Of the three cases of aspergillosis, one affected the upper respiratory tract, another abomasum and one the brain, respectively. In two cases, fungal infection occurred secondary to primary viral disease such as malignant catarrhal fever and bovine viral diarrhea. A case of *Candida albicans* infection was diagnosed in a 20-day-old calf, affecting the pre-stomachs, after the use of antibiotic therapy and corticosteroids. Additionally, a case of *Cryptococcus neoformans* var. *Grubii* In a bovine with lesions restricted to the encephalon. In the second chapter we describe the epidemiological, clinical and pathological aspects of three cases of cutaneous pythiosis in cattle diagnosed in the semi-arid state of Paraíba and Ceara States and along the coast of Sergipe, Northeast Brazil. Epidemiological and clinical data were obtained during visits to farms with suspected cases of the disease. A biopsy of the lesions of each animal was performed. The disease occurred in adult and calves that had contact with water accumulated in dams or irrigation channels. Clinically, lesions were observed mainly on the skin of the thoracic and/or pelvic limbs, characterized by flat and irregular ulcerated areas or nodules of varying sizes, some with fistulated tracts, which cut deep into the subcutaneous tissue. In one case there was involvement of superficial lymph nodes. Histologically, pyogranulomatous inflammation was associated with hyphae not stained by H.E, which were impregnated by GMS. The diagnosis of *Pythium insidiosum* was confirmed by IHC. In the third chapter we describe the epidemiological, clinical-pathological, immunohistochemical and molecular aspects of a case of cutaneous pythiosis in donkey in Brazil. It was a donkey, female, adult mixed breed, pregnant woman who presented nodular skin lesions, multifocal and disseminated, with 30 days of evolution. This animal was raised in an area of native pasture (caatinga), but grazed in an area of abundant green vegetation around a pond. Macroscopically, nodules ranged from 1-11 cm in diameter, some with irregular ulcerated surface draining bloody secretion and others covered by skin, both distributed mainly on the skin of the limbs, ventral region of the chest and mammary gland. On the cutting surface, there were discrete yellowish nodules, multifocal to coalescent and occasionally small cavitations with discrete kunkers. Microscopically, there was ulcerative and nodular dermatitis and pyogranulomatous nodular folliculitis associated with myriad negative

images of hyphae, impregnated by GMS. Immunohistochemistry obtained strong immunostaining of the hyphae in brown and from the paraffin material the DNA of *Pythium insidiosum* was extracted. After confirming the diagnosis, excision was performed only on large skin lesions, treated as second intention wounds, which were completely healed 30 days after surgery. Small cutaneous lesions regressed spontaneously in approximately 60 days. Fungal infections occur sporadically in cattle with varied clinical and pathological presentations, and their occurrence may be influenced by primary viral, metabolic and/or iatrogenic diseases. Cutaneous pythiosis occurs in cattle and donkey in the Northeast region. In addition, it may experience spontaneous healing and should be included in the differential diagnosis of skin diseases in these species.

**Key words:** micosis, *Pythium insidiosum*, bovine, donkey.

## SUMÁRIO

	<b>Pag.</b>
INTRODUÇÃO.....	16
REFERÊNCIAS.....	18
<b>CAPÍTULO I - Doenças fúngicas em bovinos no semiárido do Nordeste do Brasil.....</b>	<b>19</b>
ABSTRACT.....	20
RESUMO.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	24
DISCUSSÃO.....	31
CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	35
<b>CAPÍTULO II - Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil.....</b>	<b>49</b>
ABSTRACT.....	50
RESUMO.....	51
INTRODUÇÃO.....	52
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
RESULTADOS.....	53
DISCUSSÃO.....	55
CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

<b>CAPÍTULO III - Pitiose cutânea em asinino (<i>equus asinus</i>) no Brasil - Brief <i>Communication</i>.....</b>	<b>64</b>
RESUMO.....	65
REFERÊNCIAS.....	70
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>74</b>

## LISTA DE FIGURAS

Pag.

### CAPÍTULO I Doenças fúngicas em bovinos no Nordeste do Brasil

- Figura 1** Zigomicoses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Rúmen. Observa-se na superfície de corte, área focal amarronzada com espessamento da submucosa. B) Coração. Superfície de corte de fragmento de miocárdio demonstrando trombo aderido a valva atrioventricular esquerda (asterisco). C) Rim. Observam-se áreas multifocais avermelhadas irregulares e nódulos multifocais amarelados na superfície subcapsular. D) Rim. Superfície de corte. Verifica-se infarto na cortical e medular. Órgãos fixados em formol..... 44
- Figura 2** Zigomicoses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Rúmen. Observa-se corte longitudinal de hifa levemente basofílica circundada por neutrófilos na submucosa. HE. B) Rúmen. Observa-se na submucosa cortes longitudinais de hifas coradas em rosa circundadas por neutrófilos e fibrina. PAS. C) Rim. Observam-se múltiplas hifas irregulares impregnadas em preto na luz de vasos. GMS. D) Rúmen. Imunomarcção positiva de hifas para *Rhizopus arrhizus*. IHQ..... 45
- Figura 3** Aspergiloses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Cavidade nasal. Corte sagital. Observa-se na mucosa das conchas e meatos nasais exsudato amarelado, com material esbranquiçado e acinzentado. B) Traqueia e brônquios. Observa-se na mucosa da traqueia e brônquios exsudato amarelado e material esbranquiçado. C). Encéfalo. Verifica-se assimetria do hemisfério cerebral direito e área focalmente extensa avermelhada e irregular nas leptomeninges do córtex occipital direito. D) Encéfalo. Observam-se em cortes

seriados fixado em formol, com assimetria do telencéfalo direito e áreas acinzentadas com cavitações nas substâncias branca e cinzenta estendendo-se do córtex occipital ao córtex temporal e compressão da porção do tálamo e colículo..... 46

**Figura 4** Aspergiloses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Traqueia. Observam-se miríades de hifas basílicas associada a neutrófilos degenerados na superfície da mucosa. HE. B) Encéfalo. Córtex occipital. Observam-se nos vasculite e trombos nas leptomeninges e no neurópilo adjacente. HE. C) Traqueia. No lúmen da traqueia (asterisco) observam-se conidióforos impregnados em preto. GMS. D) Traqueia. Observam-se no lúmen da traqueia (asterisco) hifas e conidióforos (setas) corados em rosa associada a restos necróticos. PAS. E) Verificam-se hifas fortemente coradas em rosa. PAS. F) Pulmão. Imunomarcção positiva das hifas em marron para *Aspergillus* spp. IHQ..... 47

**Figura 5** Candidíase em bovino no Nordeste do Brasil. A) Pré-estômagos. Observa-se material esbranquiçado, recobrando a mucosa do rúmen, retículo e omaso. B) Rúmen. Observam-se áreas multifocais de ulcerações na mucosa e material esbranquiçado, grumoso adjacente. C) Rúmen. Observam-se hifas fracamente basofílicas (setas) em meio a neutrófilos e fibrina na superfície da mucosa. HE. D) Rúmen. Observa-se imunomarcção das hifas em marron para *Candida albicans*. IHQ..... 48

## **CAPITULO II Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil**

**Figura 1** Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Observam-se bovinos pastejando em áreas de baixio próximo a canal de irrigação. Adjacente verifica-se vegetação litorânea e mata atlântica. Japarutuba, Sergipe..... 60

**Figura 2** Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Bovino 1. A) Observam-se nódulos multifocais nas regiões cervical, tibial, metacarpiana e no glúteo. B) Verifica-se nódulo de superfície ulcerada na região glútea. C) Observam-se nódulos recobertos por pele íntegra e tratos fistulosos deprimidos e alopecicos na região da tibia e metacarpo. D) Pele. Observa-se na superfície de corte, áreas amareladas e avermelhadas irregulares, delimitadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante se estendendo ao tecido subcutâneo. E) Linfonodo. Superfície de corte de linfonodo cervical superficial. Observa-se áreas nodulares amareladas multifocais a coalescentes entremeadas por áreas avermelhadas discretas nas regiões cortical e medular..... 62

**Figura 3** Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Bovino 3. A) Pele. Observa-se na região do úmero área ulcerada de superfície avermelhada ressequida e bordas delimitadas por halo escuro. B) Pele. Observa-se na superfície de corte, tecido esbranquiçado, liso e brilhante, com áreas multifocais discretamente amareladas..... 62

**Figura 4** Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. A) Bovino 1. Pele. Observa-se piogranulomas com múltiplas células gigantes multinucleadas, algumas com imagens negativas de hifas no citoplasma (setas). HE. B) Bovino 1. Observam-se piogranulomas infiltrando tecido muscular. C) Bovino 1. Linfonodo. Verificam-se piogranulomas na região cortical do linfonodo. HE. D) Bovino 2. Imagem negativa de hifa (seta) circundada por *Splendori-Hoepli* no centro de piogranuloma. HE. E) Hifa impregnada em preto, formando ângulo reto. GMS. F) Observam-se hifas no citoplasma de células gigantes imunomarcadas em vermelho para *Pythium insidiosum*..... 63



### CAPÍTULO III Pitiose cutânea em asinino (*Equus asinus*) no Brasil

**Figura 1** Pitiose em asinino no Brasil. A) Observam-se lesões cutâneas nodulares e ulcerativas drenando secreção serosanguinolenta na região do peito. B) Pele. Superfície de corte contendo múltiplos *kunkers* e algumas cavitações ou galerias com secreção serosanguinolenta, circundadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante. C) Verifica-se necrose eosinofílica (asterisco) na luz de folículo piloso (cabeça de seta), além de ruptura da parede folicular (seta). HE. D) Verificam-se múltiplas hifas de *P. insidiosum* fortemente marcadas em marron (setas) pelo método de Estreptavidina-biotina peroxidase. ....

## LISTA DE QUADRO

Pag.

### CAPÍTULO I Doenças fúngicas em bovinos no semiárido do Nordeste do Brasil

<b>Quadro 1</b>	Descrição dos protocolos de imuno-histoquímica utilizados com os anticorpos anti- <i>Rhizopus-arrhizus</i> , anti- <i>Aspergillus</i> spp., anti- <i>Conidiobolus lamprauges</i> e anti- <i>Candida albicans</i> .....	43
-----------------	--	----

## INTRODUÇÃO

Doenças fúngicas e pitiose vêm ocorrendo em ruminantes e equídeos no Brasil. Entretanto na literatura brasileira, existem poucos trabalhos caracterizando as doenças fúngicas em animais de produção. Recentemente, no Rio Grande do Sul, candidíase, aspergilose, zigomicose, criptococose foram relatadas como as principais doenças fúngicas que acometem animais na região (Galiza et al., 2014). A ocorrência dessas doenças tem sido associada à imunossupressão, em decorrência às características oportunistas desses fungos (Garcia & Blanco 2000). Na região Nordeste, acredita-se que a ocorrência de doenças fúngicas primárias e principalmente secundárias estejam associadas principalmente a doenças virais.

A maioria dos casos de pitiose tem sido descritos em equinos, mas a doença também foi diagnosticada em bovinos, ovinos, cães, gatos (Galiza et al., 2014; Martins et al., 2011) e em um caprino (Carmo, 2015). Descrição da doença em asinino não foi observada na literatura nacional. Pitiose em asinino foi relatado apenas na Colômbia afetando nove animais, que apresentaram características semelhantes aos equinos (Álvarez et al., 2013).

Pitiose em bovinos ocorre na maioria das vezes de forma esporádica (Santurio et al., 1998), porém, surtos da forma cutânea em bovinos foram descritos no Rio Grande do Sul (Grecco et al., 2009) e no Pantanal Mato-Grossense (Santos et al., 2011). A baixa ocorrência da doença nessa espécie tem sido atribuída principalmente ao fenômeno de cura espontânea (Santurio et al., 1998; Grecco et al., 2009). No sertão da Paraíba, em estudos realizados sobre as doenças de pele em equinos, pitiose representou 24,38% dos casos diagnosticados (Pessoa et al., 2014). Adicionalmente, nessa região variadas formas de infecção da doença incluindo cutânea (Tabosa et al., 2004), nasal (Portela et al., 2010) e gastrointestinal (Pessoa et al., 2012) foram diagnosticadas em ovinos, além de um caso em caprino que apresentava lesões cutâneas (Carmo, 2015). No entanto, não há relatos da doença afetando bovinos nessa região.

Com o aumento da ocorrência dessas doenças na região, cresce também a necessidade de se conhecer detalhadamente seus aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos, além da necessidade de se buscar técnicas laboratoriais eficientes para o diagnóstico etiológico.

A tese está dividida em três capítulos com artigos científicos elaborados de acordo com as normas de periódicos a que foram submetidos à publicação, conforme o que estabelece a NORMA Nº 01/2013 de 09 de julho de 2013 do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária. O primeiro capítulo descrevem-se as doenças fúngicas diagnosticadas em bovinos no sertão da Paraíba, Nordeste do Brasil,

1 enfatizando os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos e foi submetido à  
2 Pesquisa Veterinária Brasileira. O segundo capítulo também foi submetido à Pesquisa  
3 Veterinária Brasileira e descreve os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos da pitiose  
4 em bovinos na região Nordeste do Brasil. O terceiro capítulo relata um caso de pitiose cutânea  
5 em asinino na região semiárida do Brasil, caracterizando os aspectos epidemiológicos, clínicos,  
6 patológicos, imuno-histoquímicos e moleculares.

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

## REFERÊNCIAS

- 1  
2  
3 Álvarez, J.A.C.A.; Vilorio, M.I.V.V.; Ayola, S.C.P. Evaluacion clínica e histopatológica de la  
4 pitiosis cutânea em burros (*Equus asinus*). Ver. Med. Vet. 2013, 25:9-19.  
5  
6 Carmo, P.M.; Portela, R.A.; Silva, T.R.; Oliveira-Filho, J.C.; Riet-Correa, F. Cutaneous  
7 pythiosis in a goat. J. Comp. Pathol. 2015, 152(2-3):103-105.  
8  
9 Galiza, G.J.N.; Silva, T.M.; Caprioli, R.A.; Barros, C.S.L.; Irigoyen, L.F.; Figuera, R.A.;  
10 Lovato, M.; Kommers, G.D. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230  
11 casos. Pesq.Vet. Bras. 2014, 34(3): 224-232.  
12  
13 Garcia, M.E.; Blanco J.L. 2000. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales  
14 domésticos. Ver.Iber. Micol. 17:2-7.  
15  
16 Grecco, F.B.; Schild, A. L.; Quevedo, P.; Assis-Brasil, N.D.; Kommers, G.D.; Marcolongo-  
17 Pereira, C.; Soares, M. P. Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul. Pesq.  
18 Vet. Bras. 2009, 29(11): 938-942.  
19  
20 Martins, T.B.; Kommers, G.D.; Trost, M.E.; Inkelmann, M.A.; Figuera, R.A.; Schild, A.L. A.  
21 Comparative study of the histopathology and immunohistochemistry of pythiosis in horses,  
22 dogs and cattle. J. Comp. Pathol. 2012, 146: 122-131.  
23  
24 Pessoa, C.R.M.; Riet-Correa, F.; Pimentel, L.A.; Garino Jr, F.; Dantas, A.F.M.; Kommers,  
25 G.D.; Tabosa, I.M.; Reis-Júnior, J.L. Pythiosis of the digestive tract in sheep. J. Vet. Diagn.  
26 Invest. 2012, 24(6):1133-1136  
27  
28 Pessoa, A.F.A.; Pessoa, C.R.M.; Miranda-Neto, E.G.; Dantas, A.F. M.; Riet-Correa, F. Doenças  
29 de pele em equídeos no semiárido brasileiro. Pesq. Vet. Bras. 2014, 34 (8):743-748.  
30  
31 Portela, R.A.; Riet-Correa, F.; Garino Júnior, F.; Dantas, A.F.M.; Simões, S.V. D.; Silva, S. M.  
32 S. Doenças da cavidade nasal em ruminantes no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 2010, 30(10):844-854.  
33  
34 Santos, C.E.P.; Santurio, J.N.; Marques, L.C. Pitiose em animais de produção no Pantanal  
35 Matogrossense. Pesq. Vet. Bras. 2011, 31 (12):1083-1089.  
36  
37 Santurio, J.M.; Monteiro, A.B.; Leal, A.T.; Kommers, G.D.; Sousa, R.S.; Catto, J. B. Cutaneous  
38 pythiosis insidiosi in calves from the Pantanal region of Brazil. Mycopathol. 1998, 141:123-  
39 125.  
40  
41 Tabosa, I. M.; Riet-Correa, F.; Nobre, V. M. T.; Azevedo, E.O.; Reis Junior, J. L.; Medeiros,  
42 R. M. T. Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brazil. Vet. Pathol. 2004,  
43 41, 412-415.  
44  
45  
46  
47

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

## **CAPÍTULO I**

### **DOENÇAS FÚNGICAS EM BOVINOS NO SEMIÁRIDO DO NORDESTE DO BRASIL**

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira (anexo 1).

# Doenças fúngicas de bovinos no semiárido do Nordeste do Brasil<sup>1</sup>

Lisanka A. Maia<sup>2\*</sup>, Maria J. Rodrigues<sup>3</sup>, Jefferson S. Ferreira<sup>3</sup>, Glaucia D. Kommers<sup>4</sup>,  
Glauco J. N. Galiza<sup>5</sup>, Sara V.D.Simões<sup>5</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>5</sup>, Antônio F. M. Dantas<sup>5</sup>

**ABSTRACT.-** Maia L.A., Rodrigues M.J., Ferreira J.S., Kommers G.D., Galiza G.J.N., Simões S.V.D., Riet-Correa F. & Dantas A.F.M. 2016. [Fungal diseases in cattle in Northeastern of Brazil] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Hospital Veterinário, Laboratório de Patologia Animal, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: lisankavet@hotmail.com.br

The fungal diseases diagnosed in cattle in the backlands of Paraíba, Northeastern Brazil, are described, emphasizing the main epidemiological, clinical and pathological aspects. A retrospective study of bovine necropsies performed from January 2003 to December 2015 was carried out at the Animal Pathology Laboratory of the Federal University of Campina Grande and selected suspected or confirmed cases of fungal diseases. From these protocols, information regarding animal identification, clinical signs, clinical course, location of lesions and macroscopic and microscopic changes were collected. The diagnosis was established based on the morphotintorial characteristics of the agent and in some cases by immunohistochemistry. Out of 817 bovine necropsies, 11 cases of fungal diseases were diagnosed, representing 1.34%. The fungal infections diagnosed in order of frequency were zygomycosis (6 cases), aspergillosis (3 cases), candidiasis (1 case) and cryptococcosis (1 case). The agents of the six cases of zygomycosis infections, five were classified as Mucorales (bovine 1-5) and one Entomophthorales (bovine 6). Out of the five cases of Mucorales, two presented systemic infection with lesions in several organs, including the fore-stomachs, abomasum, kidneys, heart, besides the diaphragm (bovine 1) and the brain (bovine 2). In one case the lesions were

---

\* Recebido em

Aceito para publicação em

<sup>2</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Av. Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, 58708-110, Patos, PB. \*Autor para correspondência: lisankavet@hotmail.com

<sup>3</sup> Discente da Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Patos- PB.

<sup>4</sup> Docente do Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS.

<sup>5</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Patos- PB.

1 restricted to the rumen, reticulum and abomasum (bovine 3) and in the other two, there were  
2 lesions in the brain (bovine 4) and in the skin (bovine 5). Antibiotic therapy (bovine 2), ruminal  
3 acidosis (bovine 3) and photodermatitis due by *Enterolobium contortisiliquum* (bovine 5)  
4 facilitated the fungal infection of some cases. In bovine 3, positive immunostaining was  
5 observed for *Rhizopus arrhizus* and in bovine 6 for *Conidiobolus lamprageus*. Of the three  
6 cases of aspergillosis (bovines 7-9), one affected the upper respiratory tract, another abomasum  
7 and one the brain, respectively. In two cases, fungal infection occurred secondary to primary  
8 viral diseases such as malignant catarrhal fever (bovine 7) and bovine viral diarrhea (bovine 9).  
9 A case of *Candida albicans* infection was diagnosed in a 20-day old calf (bovine 10), affecting  
10 the fore-stomachs, after the use of antibiotic therapy and corticosteroids. A case of  
11 *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. in a bovine with lesions restricted to the encephalon  
12 (bovine 11). Cases of zygomycosis, aspergillosis, candidiasis and cryptococcosis are diagnosed  
13 in cattle in the semiarid region of Northeastern Brazil, associated or not with previous diseases,  
14 with clinical manifestations varying according to the location of the infection and the agent  
15 involved.

16

17 INDEX TERMS: Fungal infections, diseases of cattle, zygomycosis, aspergillosis.

18

19 **RESUMO.-** Descrevem-se as doenças fúngicas diagnosticadas em bovinos no sertão da  
20 Paraíba, Nordeste do Brasil, enfatizando os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e  
21 patológicos. Para isso, foi realizado um estudo retrospectivo das necropsias de bovinos  
22 realizadas no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2015, no Laboratório de Patologia  
23 Animal da Universidade Federal de Campina Grande e selecionado os casos suspeitos ou  
24 confirmados de doenças fúngicas. Desses protocolos foram colhidas informações referentes a  
25 identificação do animal, sinais clínicos, evolução clínica, localização das lesões e alterações  
26 macroscópicas e microscópicas. O diagnóstico foi estabelecido com base nas características  
27 morfotintoriais do agente e em alguns casos pela imuno-histoquímica. De 817 necropsias de  
28 bovinos, foram diagnosticados 11 casos de doenças fúngicas, representando 1,34%. As  
29 infecções fúngicas diagnosticadas em ordem de frequência foram zigomicoses (6 casos),  
30 aspergilose (3 casos), candidíase (1 caso) e criptococose (1 caso). Dos seis casos de infecções  
31 por zigomicetos, cinco foram classificados como Mucorales (bovinos 1, 2, 3, 4 e 5) e um  
32 Entomophthorales (bovino 6). Dos cinco casos de Mucorales, dois apresentaram infecção  
33 sistêmica com lesões em vários órgãos, incluindo nos pré-estômagos, abomaso, rins, coração,  
34 além do diafragma (bovino 1) e do encéfalo (bovino 2). Um caso as lesões estavam restritas ao



1 rúmen, retículo e abomaso (bovino 3) e nos outros dois, havia lesões no encéfalo (bovino 4) e  
2 na pele (bovino 5). Antibioticoterapia (bovino 2), acidose ruminal (bovino 3) e fotodermatite  
3 por *Enterolobium contortisiliquum* (bovino 5) favoreceram a infecção fúngica de alguns casos.  
4 No bovino 3, observou-se imunomarcagem positiva para *Rhizopus arrhizus* e no bovino 6 para  
5 *Conidiobolus lamprageus*. Dos três casos de aspergiloses (bovinos 7, 8 e 9), um afetava o trato  
6 respiratório superior, outro abomaso e um o encéfalo, respectivamente. Em dois casos, a  
7 infecção fúngica ocorreu secundariamente a doenças virais primárias como febre catarral  
8 maligna (bovino 7) e diarreia viral bovina (bovino 9). Um caso de infecção por *Candida*  
9 *albicans* foi diagnosticado em um bezerro de 20 dias de idade (bovino 10), afetando os pré-  
10 estômagos, após a utilização de antibioticoterapia e corticoides. Também foi diagnosticado um  
11 caso de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. em um bovino com lesões restritas ao encéfalo  
12 (bovino 11). Casos de zigomicoses, aspergiloses, candidíase e criptococose foram  
13 diagnosticados em bovinos no semiárido do Nordeste do Brasil, associadas ou não a doenças  
14 prévias, com manifestações clínicas variadas de acordo com a localização da infecção e o agente  
15 envolvido.

16

17 TERMOS DE INDEXAÇÃO: Infecções fúngicas, doenças de bovinos, zigomicoses,  
18 aspergilose.

19

20

## INTRODUÇÃO

21 Diversos agentes fúngicos têm sido descritos como responsáveis por causar doenças em animais  
22 e no homem (Connole 1967, Armstrong 1989, Garcia & Blanco 2000, Dial 2007). Dentre as  
23 doenças causadas por fungos que acometem animais domésticos destacam-se aspergilose,  
24 zigomicoses, candidíase, criptococose, dermatofitose e esporotricose (Galiza et al. 2014).  
25 Animais debilitados ou imunocomprometidos e os submetidos a antibioticoterapia prolongada  
26 são considerados sob risco particular, devido a característica oportunista da maioria dos agentes  
27 fúngicos (Garcia & Blanco 2000).

28 Em bovinos, infecções fúngicas têm sido relatadas principalmente como causas de  
29 mastites (Santos & Marin 2005, Sukumar et al. 2012), placentites e abortos (Hillman 1969,  
30 Corbellini et al. 2003), mas também afetando o trato alimentar (Ohshima et al. 1976, Jensen et  
31 al. 1989, Quevedo et al. 2015) e menos frequentemente causando alterações disseminadas  
32 (Chihaya et al. 1992ab, Jensen et al. 1994). As principais etiologias fúngicas citadas são  
33 *Candida* spp., *Aspergillus* spp e zigomicetos da ordem Mucorales (Garcia et al. 2000).

1 No Brasil, há poucos estudos sobre a ocorrência de infecções fúngicas, estando a maioria  
2 voltada a relatos de casos específicos (Silva et al. 2007, Carmo et al. 2014). No entanto, no Rio  
3 Grande do Sul, em um estudo retrospectivo verificou-se, que as doenças fúngicas foram mais  
4 frequentes em animais de companhia, seguida de aves, equinos e ruminantes. As principais  
5 doenças diagnosticadas foram candidíase, aspergilose, zigomicose, dermatofitose,  
6 malasseziose, criptococose, megabacteriose e esporotricose (Galiza et al. 2014).

7 Na região Nordeste, doenças fúngicas tem sido descritas principalmente em pequenos  
8 ruminantes, como casos isolados ou na forma de surtos (Silva et al. 2010, Carmo et al. 2014).  
9 Há relatos de surtos de conidiobolomicose na Paraíba (Riet-Correa et al. 2008, Portela et al.  
10 2010), Piauí (Silva et al. 2007), Rio Grande do Norte (Câmara et al. 2011) e Pernambuco  
11 (Mendonça et al. 2012). Na região Norte do Piauí a doença é considerada endêmica com  
12 prevalência média anual de 2,8% (Silva et al. 2007). Também já foi relatado caso de  
13 criptococose nasal em ovino no Estado do Pernambuco (Silva et al. 2010) e de aspergilose nasal  
14 e cutânea no Estado da Paraíba (Carmo et al. 2014). No entanto, na espécie bovina os relatos  
15 de doenças fúngicas no Brasil são escassos (Riet-Correa et al. 2011). Desta forma, objetivou-  
16 se descrever as doenças fúngicas diagnosticadas em bovinos no sertão da Paraíba, Nordeste do  
17 Brasil, enfatizando os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos.

## 18 **MATERIAL E MÉTODOS**

19 Foram revisados os protocolos de necropsias de bovinos arquivados no Laboratório de  
20 Patologia Animal (LPA) da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos,  
21 Paraíba entre janeiro de 2003 a dezembro de 2015. Os casos de doenças fúngicas foram  
22 selecionados. Desses protocolos foram colhidas informações de raça, sexo, idade, tempo de  
23 evolução da doença, sinais clínicos, localizações das lesões e alterações macroscópicas e  
24 microscópicas. Para mais detalhamento dos dados epidemiológicos e clínicos foram revisadas  
25 as fichas de atendimento referentes a esses animais nos arquivos da Clínica Médica de Grandes  
26 Animais.

27 As lâminas histológicas dos casos de doenças fúngicas foram separadas. Em alguns  
28 casos, quando não existiam mais lâminas foi realizada a busca do material em formol  
29 tamponado a 10% e/ou material em blocos de parafina arquivados no LPA para confecção de  
30 novas lâminas para descrição histopatológica.

31 A identificação do agente foi realizada com base nas suas características  
32 histomorfológicas, propriedades tintoriais e/ou por imuno-histoquímica (IHQ) ou combinações  
33 desses métodos. Para caracterização morfotintorial de cada agente utilizaram-se as colorações  
34

1 hematoxilina e eosina (HE), impregnação pela metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS),  
2 ácido periódico de Schiff (PAS) e Azul Alciano (AA). O diâmetro da hifa foi obtido através de  
3 microscópio Axio Scope.A1 câmera digital Axio Cam MRc5, controlada pelo programa Zen  
4 2012.

5 Imuno-histoquímica foi realizada nos casos previamente diagnosticados pela  
6 histopatologia utilizando anticorpos fungo-específicos. Para detecção de *Rhizopus arrhizus* ou  
7 outros zigomicetos membros da família Mucoraceae, como *Absidia corymbifera* e *Rhizomucor*  
8 *pusillus*, e *Aspergillus* spp. foram utilizados anticorpos monoclonais anti-*Rhizopus arrhizus*  
9 (Clone WSSA-RA-1, AbD Serotec) e anti-*Aspergillus* spp. (Clone WF-AF-1, AbD Serotec),  
10 respectivamente. Para a confirmação das zigomicoses por *Conidiobolus* foi utilizado anticorpo  
11 policlonal não comercial anti-*Conidiobolus lamprauges*. Na suspeita de *Candida* spp. utilizou-  
12 se o anticorpo policlonal anti-*Candida albicans* (ab53891). O resumo dos protocolos utilizados  
13 para cada anticorpo estão descritos no Quadro 1. Em todos os protocolos o bloqueio da  
14 peroxidase endógena foi realizado com peróxido de hidrogênio a 3% (2 vezes de 10 minutos).  
15 Para diminuição das ligações inespecíficas, as secções histológicas foram tratados com caseína  
16 (leite em pó desnatado) a 5% por 30 minutos em temperatura ambiente. Como controle positivo  
17 foram utilizados secções histológicas de casos confirmados de zigomicose, aspergilose e  
18 candidíase. Como controle negativo, uma das secções histológicas de cada caso suspeito, foram  
19 incubados apenas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) contendo 0,5% de Tween  
20 20 (PBST).

21 Um caso de criptococose cerebral deste levantamento já foi publicado por Riet-Correa  
22 et al. (2011).

23

24

## RESULTADOS

25 Foram revisados 817 protocolos de necropsias de bovino no período estudado e diagnosticados  
26 11 casos de infecções fúngicas, representando 1,34%. As infecções diagnosticadas em ordem  
27 de frequência foram zigomicoses (6 casos), aspergilose (3 casos), candidíase (1 caso) e  
28 criptococose (1 caso).

29 Em cinco dos 11 casos os diagnósticos foram realizados com base nas características  
30 morfológicas dos agentes e nos outros seis, além dessas características, a etiologia foi  
31 confirmada por IHQ.

32

33 **Zigomicoses**

1 Foram diagnosticados seis casos de infecções por zigomicetos, sendo cinco  
2 classificados como Mucorales (bovinos 1, 2, 3, 4 e 5) e um Entomophthorales (bovino 6). As  
3 alterações variaram de digestivas, encefálica, cutâneas e infecções sistêmicas.

4 Os Bovinos 1 e 2 tiveram infecções sistêmicas, apresentando lesões principalmente no  
5 rúmen, retículo, abomaso, coração e rins. No bovino 1, também foram observadas lesões no  
6 diafragma e no Bovino 2, o encéfalo também foi afetado. As manifestações clínicas foram  
7 variadas e no Bovino 1 caracterizaram-se por relutância ao movimento e sopro a ausculta  
8 cardíaca, com evolução de 15 dias. Devido à suspeita de clínica de reticulite traumática foi  
9 realizada a laparotomia exploratória sendo observada aderência do retículo ao diafragma e o  
10 corpo estranho não foi observado. No Bovino 2, os sinais clínicos tiveram duração de 21 dias e  
11 inicialmente foi observado debilidade, apatia, febre, atonia ruminal, taquipnéia, presença de  
12 secreção serosa nasal bilateral, hiperfonese cardíaca, opacidade de córnea e cegueira. Em ambos  
13 os bovinos, foi relatado a utilização de antibioticoterapia, no entanto, o tempo de administração  
14 não foi informado. As lesões macroscópicas nesses dois bovinos foram semelhantes e nos pré-  
15 estômagos caracterizaram-se por áreas multifocais ulceradas, medindo de 0,5-1,5 cm de  
16 diâmetro, às vezes com centro deprimido e amarronzada, circundadas por bordos elevados e  
17 irregulares, algumas recobertas por conteúdo amarronzado e espessamento discreto da  
18 submucosa (Fig. 1A). Além das lesões digestivas, observou-se no coração, trombos amarelados,  
19 firmes e com superfície irregular avermelhada, aderidos a valva atrioventricular esquerda (Fig.  
20 1B) e no miocárdio áreas multifocais pálidas circunscritas por halo avermelhado. Lesão  
21 semelhante ao miocárdio foi observada no diafragma do Bovino 1. Na superfície subcapsular  
22 dos rins verificaram-se áreas multifocais com centro pálido circundadas por halo avermelhado  
23 e áreas multifocais avermelhadas que se aprofundavam ao parênquima na região cortical, de  
24 aspecto triangular, estendendo-se para a medular, caracterizando infarto. No Bovino 2, essas  
25 lesões renais foram mais acentuadas e adicionalmente observaram-se nódulos amarelados  
26 elevados da superfície capsular, que se aprofundavam ao parênquima (Fig. 1C e D).

27 O Bovino 3 tinha diagnóstico de acidose ruminal. Os principais sinais clínicos  
28 observados foram distensão abdominal bilateral, atonia ruminal, diminuição do pH ruminal  
29 (4,0) e decúbito esternal, com evolução de 4 dias. O início dos sinais clínicos foram associados  
30 ao aumento no consumo de grãos (milho e soja). As lesões macroscópicas afetaram  
31 principalmente o rúmen e abomaso e apresentavam características semelhantes aos dois bovinos  
32 descritos anteriormente.

33 No Bovino 4, a infecção afetou principalmente o encéfalo. As manifestações clínicas  
34 caracterizaram-se inicialmente por aumento de volume na base do pavilhão auricular direito.

1 Foi realizado o tratamento com penicilina e dexametasona, mas não se obteve sucesso. Após  
2 14 dias, os sinais clínicos evoluíram para ataxia, ptose labial, palpebral e de orelha direita,  
3 protrusão do olho esquerdo, ausência de reflexo de ameaça e de resposta aos testes de  
4 sensibilidade do lado direito da face, nistagmo, andar em círculo, seguido de morte.  
5 Macroscopicamente observou-se na região adjacente ao osso temporal direito (no assoalho da  
6 cavidade craniana), espessamento acentuado da leptomeninge por exsudato amarelado. Após  
7 abertura da caixa craniana, ao rebater a dura-máter, observou-se fragilidade óssea moderada  
8 que se estendia ao longo da trajetória auditiva direita. O espaço subaracnoide também estava  
9 distendido por exsudato amarelado que se estendia a medula oblonga. Na secção do colículo  
10 rostral verificou-se área avermelhada medindo aproximadamente 2 cm de diâmetro.

11 O quinto caso ocorreu em bovino que apresentava lesões cutâneas de fotossensibilização  
12 secundária. Essas lesões foram observadas na orelha e caracterizaram-se por erosões,  
13 ulcerações e desprendimento da epiderme que drenavam secreção sanguinolenta, com evolução  
14 de 21 dias.

15 O Bovino 6 apresentou perda de peso e dificuldade para urinar e defecar, com evolução  
16 de 21 dias. Clinicamente observou-se a palpação retal aumento de volume na cavidade  
17 abdominal, lateral a bexiga. As lesões macroscópicas foram observadas principalmente nos  
18 pulmões e linfonodos traqueobrônquicos e ilíacos. Nos pulmões foram observados discretos  
19 nódulos multifocais de 2-4 cm de diâmetro, firmes, acinzentados, circundados por um halo  
20 avermelhado. Os linfonodos estavam aumentados de volume, variando de 6 a 18 cm de  
21 diâmetro, e ao corte exibiam superfície difusamente amarelo acinzentada, com perda da  
22 arquitetura nodal.

23 As lesões microscópicas nos Bovinos 1 - 5, foram semelhantes e caracterizaram-se por  
24 inflamação fibrinosuprativa e necrosante associada a vasculite, trombos, infartos e hifas  
25 intralesionais. Nos Bovinos 1, 2 e 3, observaram-se no rúmen e abomaso áreas multifocais de  
26 necrose com perda da camada epitelial associada a debris celulares, neutrófilos e hemorragia  
27 que por vezes estendiam-se para submucosa adjacente, associadas a hifas. No abomaso, essas  
28 áreas de necrose e inflamação também foram observadas ao redor de vasos da submucosa e  
29 estavam associadas também a miríades de hifas intralesionais. Necrose fibrinoide e vasculite  
30 dos vasos da submucosa do rúmen e abomaso e trombos associados a hifas também foram  
31 observados. No Bovino 2, além do infiltrado foi observado fibrina e edema distendendo a  
32 submucosa do rúmen, causando espessamento dessa camada. Adicionalmente, no bovino 3 foi  
33 verificado vacuolização acentuada do citoplasma das células epiteliais do rúmen com  
34 formações de vesículas que continham neutrófilos e hifas fúngicas.

1           No coração dos Bovinos 1 e 2, observou-se trombos extensos aderidos a superfície da  
2 valva átrio ventricular esquerda contendo miríades de imagens negativas tubuliformes na região  
3 central do trombo e na periferia observou-se hifas com paredes basofílicas. Adjacente ao trombo  
4 na região superficial da valva observou-se necrose fibrinossupurativa. No miocárdio adjacente  
5 à superfície valvar havia áreas multifocais a coalescentes de necrose supurativa, mineralização  
6 de algumas fibras cardíacas e hifas intralesionais associadas a necrose fibrinoide, vasculite e  
7 trombose. Nos rins foram observadas áreas multifocais de necrose de coagulação na região  
8 cortical e medular, circundadas por infiltrado de neutrófilos íntegros e degenerados. Adjacente  
9 a essas áreas havia múltiplos agregados de neutrófilos associados a hifas intralesionais no  
10 interstício e as vezes no espaço glomerular e luz de túbulos, mais evidentes no Bovino 2.  
11 Adicionalmente, no Bovino 1, foi observada proliferação de tecido conjuntivo fibroso e  
12 infiltrado discreto de macrófagos e linfócitos no interstício. Trombos associados às hifas foram  
13 observados nos dois animais.

14           No encéfalo do Bovino 2, foi observado espessamento discreto das leptomeninges por  
15 infiltrado inflamatório constituído predominantemente por neutrófilos íntegros e degenerados  
16 às vezes associado a vasculite, necrose fibrinoide, trombose e raras hifas. Nos córtices frontal,  
17 parietal e occipital e colículo rostral esse infiltrado estendia-se ao neurópilo adjacente formando  
18 agregados discretos de neutrófilos associados a hifas. No Bovino 4, as lesões encefálicas foram  
19 mais acentuadas e estavam localizadas principalmente nos colículos rostral e caudal e  
20 caracterizaram-se por áreas multifocais a coalescente de malacia associada a agregados de  
21 neutrófilos íntegros e degenerados e miríades de hifas intralesionais. Esses agregados foram  
22 vistos principalmente ao redor de vasos. Adjacente às áreas de malacia observou-se macrófago  
23 com citoplasma vacuolizado. No tálamo, óbex, cerebelo e medula cervical havia espessamento  
24 multifocal discreto das leptomeninges por infiltrado mononuclear, que também foram  
25 observados ao redor de vasos do neurópilo. Adicionalmente, essas lesões afetavam também as  
26 estruturas ósseas adjacentes.

27           Na pele do Bovino 4, verificou-se fotodermatite caracterizada por extensas áreas de  
28 necrose eosinofílica na epiderme com infiltrado de neutrófilos degenerados associados a  
29 fibrina. No ápice das áreas de necrose observaram-se estruturas fúngicas intralesionais e  
30 agregados bacterianos secundários. Adicionalmente na derme observaram-se pústulas  
31 subepidérmicas associadas a áreas de hemorragias, acentuada proliferação vascular e infiltrado  
32 inflamatório constituído por neutrófilos, eosinófilos e macrófagos.

33           No Bovino 6, verificou-se pneumonia e linfadenite piogranulomatosa, necrosante,  
34 associada a hifas fúngicas, muitas vezes circundadas por reação tipo Splendori-Hoepli. Essas

1 lesões foram mais intensas nos linfonodos e as estruturas fúngicas eram vistas como imagens  
2 negativas ou contendo citoplasma ligeiramente basófilo nos centros dos piogranulomas e no  
3 interior de células gigantes. Essas hifas eram largas e mediam de 5,0 a 30 µm de diâmetro, com  
4 formato irregular, paredes finas, pobremente septadas e com dilatação balonosa na extremidade.  
5 A IHq confirmou tratar-se de *Conidiobolus lamprageus*.

6 Nas secções coradas pela HE observou-se principalmente hifas com paredes basofílicas  
7 (Fig. 2A) e, às vezes, algumas dessas estruturas eram negativas. Pelo GMS nos fragmentos dos  
8 bovinos 1-5, verificaram-se hifas fortemente impregnadas em preto e caracterizadas  
9 morfológicamente por serem largas, com diâmetro variando de 4 - 35 µm, raramente septadas,  
10 com paredes tortuosas e ramificações irregulares (Fig. 2B). Havia forte marcação em rosa pelo  
11 PAS (Fig. 2C). No bovino 3, observou-se imunomarcação positiva para *Rhizopus arrhizus* (Fig.  
12 2D).

13

#### 14 **Aspergiloses**

15 Foram diagnosticados 3 casos de aspergilose, um deles afetando o trato respiratório  
16 superior (bovino 7), outro o abomaso (bovino 8) e um o encéfalo (bovino 9). Em dois casos, a  
17 infecção fúngica ocorreu secundariamente a febre catarral maligna e diarreia viral bovina.

18 No Bovino 7, a infecção por *Aspergillus* spp estava associada a febre catarral maligna e  
19 os sinais clínicos observados foram característicos da infecção viral, com evolução de 3 dias. As  
20 lesões macroscópicas que caracterizaram a infecção fúngica foram observadas na cavidade  
21 nasal, traqueia e brônquios e consistiram de exsudato amarelado e material esbranquiçado, às  
22 vezes acinzentado de aspecto flocular que recobriam áreas erosivas e ulcerativas nas conchas e  
23 meatos nasais da cavidade nasal e superfície da traqueia e brônquios. Adjacentes a essas áreas  
24 havia também hemorragias (Fig. 3A e B).

25 No Bovino 8, a infecção fúngica era restrita ao abomaso. Clinicamente foi relatado  
26 distocia fetal, com realização de fetotomia e retirada de feto enfisematoso. Foi instituída  
27 antibioticoterapia por 7 dias e após o tratamento, não observou-se melhora clínica e o animal  
28 foi eutanasiado. Macroscopicamente a mucosa do abomaso estava difusamente avermelhada e  
29 apresentava áreas irregulares multifocais ulceradas e de aspecto botonoso, caracterizadas por  
30 bordos elevados e centro deprimido, algumas recobertas por exsudato esverdeado.

31 O Bovino 9 era proveniente de um rebanho com histórico de mortalidade de bovinos  
32 com sinais clínicos respiratórios e digestivos devido a infecção pelo pestivírus *Hobi Like Vírus-*  
33 *Diarreia Viral Bovina* tipo III (Weber et al. 2014). Clinicamente verificou-se apatia, febre,  
34 torção da cabeça para à direita com morte após dois dias. Macroscopicamente, as lesões

1 estavam restritas ao encéfalo. Após a abertura da caixa craniana observou-se área focalmente  
2 extensa avermelhada, amolecida nas leptomeninges no córtex occipital direito, além de  
3 assimetria do hemisfério cerebral direito (Fig. 3C) e herniação cerebelar. Em secções  
4 transversais do encéfalo fixado, observou-se que essa área afetava toda substância cinzenta e  
5 branca, formando cavitações principalmente na substância branca do córtex occipital,  
6 estendendo-se também ao córtex temporal, provocando compressão da porção direita do tálamo  
7 e colículos (Fig. 3D).

8 As lesões microscópicas dos casos de aspergiloses foram semelhantes quanto ao padrão  
9 da resposta inflamatória e variaram na localização e intensidade da lesão. No bovino 7,  
10 verificou-se rinite, traqueite e bronquite fibrinonecróticas moderadas associadas a hifas e  
11 conidióforos intralesionais. Na cavidade nasal, traqueia e brônquios foram observadas áreas  
12 multifocais de necrose do epitélio respiratório associada a fibrina e infiltrado de neutrófilos  
13 íntegros e degenerados contendo miríades de hifas intralesionais (Fig. 4A). Algumas hifas  
14 observadas no lúmen da traqueia e brônquios demonstravam extremidade balonosa (vesícula),  
15 recoberta por cadeias de conídios (esporos), característicos de conidióforos. Adicionalmente  
16 verificaram-se lesões de febre catarral maligna, caracterizadas por necrose fibrinoide e vasculite  
17 na traqueia, língua, abomaso, intestino, rins, leptomeninges e rete mirabile.

18 Histologicamente no Bovino 8, observou-se na mucosa do abomaso áreas multifocais  
19 ulceradas associadas a debris celulares e infiltrado neutrófilico, que as vezes se estendiam a  
20 submucosa adjacente. Adicionalmente verificou-se que a submucosa estava distendida por  
21 necrose fibrinosupurativa e edema, associada a miríades de hifas transversais e longitudinais  
22 intralesionais, além de alguns piogranulomas multifocais e discretos. Alguns vasos da  
23 submucosa apresentam também necrose fibrinoide, além de trombos discretos e estruturas  
24 fúngicas.

25 No Bovino 9, as lesões encefálicas caracterizaram-se por espessamento acentuado das  
26 leptomeninges por infiltrado inflamatório constituído por neutrófilos, macrófagos e linfócitos  
27 associado a fibrina. Esse infiltrado estava distribuído principalmente ao redor de vasos e  
28 estendiam-se a substância cinzenta adjacente. Verificou-se vasculite, necrose fibrinoide e  
29 trombos nos vasos das leptomeninges e menos frequente no neurópilo (Figura 4B).  
30 Adicionalmente havia área focalmente extensa de malácia caracterizada por múltiplas  
31 cavitações associadas a hemorragia, edema, macrófagos com citoplasma vacuolizado (células  
32 Gitter) e miríades de imagens negativas de hifas, às vezes levemente basofílicas no neurópilo.

33 Nas secções impregnadas pelo GMS essas hifas variavam de 4-25  $\mu\text{m}$  de diâmetro,  
34 apresentando septações e ramificações dicotômicas em ângulo agudo, além dos conidióforos



1 fortemente impregnados, com características morfológicas de *Aspergillus* spp (Fig. 4C). Pela  
2 coloração do PAS eram marcadas em rosa (Fig. 4D e E). Imunomarcção positiva das hifas em  
3 marron para *Aspergillus* spp. foram observadas nos Bovinos 7 e 8 (Fig. 4F).

## 4 5 **Candidíase**

6 Foi diagnosticado um caso de infecção por *Candida* sp. em um bezerro (bovino 10),  
7 com dois meses de idade, que desde os dez dias de vida apresentava respiração ruidosa que se  
8 intensificava durante o manejo. Foi informado pelo proprietário que esse animal recebeu  
9 antibioticoterapia (penicilina) por 6 dias com dose excedente, mas não obteve-se melhora e o  
10 animal foi encaminhado ao HV apresentando distensão abdominal esquerda. No exame físico  
11 geral verificou-se timpanismo leve, dispneia mista e ruído laringotraqueal exarcebado com  
12 presença de ronco. Foi medicado com corticoide e anti-inflamatório por dois dias, mas não  
13 houve melhora do quadro clínico e realizou-se traqueostomia. Após esse procedimento, o  
14 animal foi medicado com oxitetraciclina durante 7 dias em intervalos de 48 horas. Em seguida  
15 verificou-se diarreia, desidratação e após 12 dias o animal morreu. As lesões macroscópicas  
16 foram observadas principalmente nos pré-estômagos e caracterizaram-se por espessamento  
17 difuso acentuado da mucosa do rúmen, retículo e omaso, por material esbranquiçado e grumoso,  
18 que recobria a superfície da mucosa, formando placas (Fig. 5A). No rúmen verificou-se ainda  
19 áreas ulceradas focalmente extensa, deprimidas e amarronzadas na mucosa (Fig. 5B), além de  
20 áreas levemente elevadas e esbranquiçadas na serosa. Na área da traqueostomia observou-se  
21 um abscesso.

22 Microscopicamente, as lesões foram semelhantes nos pré-estômagos e caracterizaram-  
23 se por ruminite, reticulite e omasite fibrinosupurativa com erosões e ulcerações associada a  
24 miríades de hifas intralesionais. Na mucosa do rúmen, retículo e omaso observaram-se áreas  
25 com perda das vilosidades e células epiteliais da mucosa vacuolizadas, às vezes formando  
26 vesículas contendo neutrófilos e miríades de hifas intralesionais de paredes levemente  
27 basofílicas (Fig. 5C). Mais raramente, observaram-se também áreas multifocais ulceradas  
28 associadas a material eosinofílico e fibrilar com miríades de hifas intralesionais. Adjacente a  
29 essas áreas na submucosa havia agregados de células mononucleares e ninhos de células  
30 epiteliais queratinizadas, algumas acantolíticas. Nas secções de GMS as hifas apareciam como  
31 estruturas delgadas, variando de 1-4  $\mu$ m de diâmetros, paredes paralelas e raras septações. Essas  
32 hifas coraram-se fracamente em rosa pelo PAS. Pela IHq observou-se forte imunomarcção das  
33 hifas para *Candida albicans* (Fig. 5D).

34

## 1 **Criptococose**

2 Foi diagnosticado um caso de criptococose afetando especificamente o encéfalo (bovino  
3 11). Os sinais clínicos observados foram característicos de envolvimento no córtex cerebral.  
4 Macroscopicamente observou-se assimetria dos telencéfalos com cavitações contendo material  
5 gelatinoso e hidrocefalia secundária, caracterizado histologicamente por meningoencefalite  
6 granulomatosa e leveduras intralesionais, identificadas pela imuno-histoquímica como  
7 *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. Detalhes desse caso já foram relatados por Riet-Correa  
8 (2011).

9

10

## DISCUSSÃO

11 O diagnóstico das infecções fúngicas foi realizado com base nas propriedades histoquímicas,  
12 características morfológicas do agente e do padrão da resposta inflamatória do hospedeiro.  
13 Naqueles casos em que a IHQ não foi positiva para determinado agente fúngico, acredita-se  
14 que a ausência de imunomarcção tenha ocorrido pela presença das hifas nas áreas de necrose,  
15 onde a ação de enzimas proteolíticas liberadas pelas células necróticas contribuíram para perda  
16 da antigenicidade nos epítomos específicos. O tempo de fixação do material em formol, pode  
17 também ter contribuído para alterações na estrutura do antígeno (Ramos-Vara & Beissenherz  
18 2000).

19 As infecções fúngicas foram consideradas pouco frequentes representando 1,34% das  
20 doenças diagnosticadas em bovinos. No entanto, chama a atenção que dos 11 casos  
21 diagnosticados em seis (Bovinos 1,2, 4, 6,8,10 e 11) as infecções fúngicas foram responsáveis  
22 por determinar o quadro clínico e morte dos animais, conseqüentemente causando perdas  
23 econômicas significativas. No Brasil, há poucos estudos sobre a ocorrência de infecções  
24 fúngicas em animais (Galiza et al. 2014) e nenhum envolvendo especificamente bovinos, a  
25 maioria está voltada a relatos de casos (Riet-Correa et al. 2011, Quevedo et al. 2015). Acredita-  
26 se que a observação de sinais clínicos variados, associados às lesões macroscópicas pouco  
27 específicas, falha na coleta de material para diagnóstico e dificuldade do mesmo, contribuam  
28 para que essas doenças sejam pouco diagnosticadas ou subestimadas.

29 Das infecções fúngicas estudadas a zigomicose foi mais frequente. Dos seis casos  
30 diagnosticados, seja de forma localizada ou sistêmica, em três foram observadas lesões no trato  
31 alimentar. Alterações localizadas nos pré-estômagos e abomaso são considerados os locais de  
32 maior ocorrência de zigomicose em ruminantes (Sheridan 1981, Chihaya et al. 1988a). Dentro  
33 da ordem Mucorales, os principais gêneros responsáveis por zigomicoses gastrintestinais  
34 incluem *Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor* e *Rhizopus* (Grooters & Foil 2006). Acredita-se que a

1 sobrevivência desses fungos em locais de condições de baixo pH, associadas a lesões prévias  
2 nas mucosas dos pré-estômagos e abomaso, bem como a características de angioinvasividade  
3 desses agentes, favoreçam a sua penetração e multiplicação, resultando em vasculite, trombose,  
4 infartos e inflamação fibrino-hemorrágica (Radostitis 2000), como observados nos Bovinos 1-  
5 3. Possivelmente, o estado imunológico do animal e a intensidade da lesão, podem ser  
6 responsáveis pela determinação do quadro clínico e extensão da infecção para outros sítios  
7 secundários.

8 Tem sido descrito que acidose ruminal por sobrecarga de carboidratos na dieta, atonia  
9 ruminal, prenhez, endometrites, mastites, septicemias e a utilização de antibioticoterapia podem  
10 ser considerados fatores que contribuem para a ocorrência de zigomicoses no trato alimentar de  
11 bovinos (De Lahunta et al. 1967, Chihaya et al. 1988a, Chihaya et al. 1992a, Quevedo et al  
12 2015). Desta forma, no Bovino 3, a acidose ruminal foi considerada o principal fator que  
13 favoreceu a infecção fúngica, uma vez que lesões histológicas características da doença foram  
14 observadas. No Bovino 1, chama a atenção a suspeita clínica de reticulite traumática e a  
15 observação macroscópica de lesões crônicas entre retículo e diafragma, frequentes nos casos  
16 dessa enfermidade. A ausência de corpo estranho, não descarta a possibilidade que a porta de  
17 entrada para os zigomicetos tenha sido causada pela lesão traumática na mucosa, uma vez que  
18 histologicamente foram observadas lesões no retículo e diafragma associadas à presença de  
19 hifas intralésionais. A utilização de antibióticos nesse caso não foi suficiente para debelar a  
20 infecção e associada a característica angioinvasiva do agente, pode ter influenciado na  
21 ocorrência do quadro sistêmico, semelhante ao observado por Sheridan (1981). A atonia  
22 ruminal e a utilização da antibioticoterapia, associada a baixa faixa etária e conseqüentemente  
23 o estado imunológico deficiente do Bovino 2, possivelmente, contribuíram para o  
24 desencadeamento da forma sistêmica da doença com envolvimento do coração, rins e encéfalo.  
25 Essa forma sistêmica de zigomicose em bovinos tem sido causada por fungos da ordem  
26 Mucorales, família Mucoraceae, dos quais as espécies *Absidia corymbifera*, *Rhizopus oryzae* e  
27 *Rhizomucor (Mucor) pusillus* são especialmente importantes (Dion et al. 1987, Jensen et al.  
28 1989, Chihaya et al. 1992a, 1992b, Vasconcelos & Granh 1995).

29 Zigomicoses afetando o sistema nervoso são pouco frequentes e podem ocorrer por  
30 extensão ou contiguidade de lesões na cavidade nasal (Blitzer et al. 1993, Riet-Correa et al.  
31 2008, Elinav et al. 2009), traumas locais ou feridas (Ciuoderis-Aponte et al. 2009), ou por via  
32 hematogênica em infecções disseminadas (Gleiser 1953, Cordes & Shortridge, 1968, Jensen et  
33 al. 1994). Em bovinos, o envolvimento do sistema nervoso, tem sido relato como conseqüência  
34 de infecção disseminada e os zigomicetos da ordem Mucorales são os mais comumente

1 descritos (Cordes & Shortridge, 1968, Knudtson et al. 1973, Chihaya et al. 1986, Chihaya et al.  
2 1992a, Jensen et al. 1994). Casos semelhantes foram esporadicamente diagnosticados em outras  
3 espécies, incluindo cães (Gleiser 1953) e gatos (Ravisse et al. 1978). Apesar da via hematológica  
4 ser mais frequente, no Bovino 4, possivelmente a infecção do encéfalo ocorreu por extensão de  
5 lesões primárias na base do pavilhão auricular, com osteomielite adjacente, seguida de  
6 meningite e encefalite, responsáveis pelo quadro clínico observado nesse animal. Essa  
7 apresentação clínica ainda não tem sido descrita em bovinos, entretanto, em humanos a forma  
8 cerebral da doença ocorre comumente secundária ao envolvimento primário da cavidade nasal  
9 (Blitzer et al. 1993, Elinav et al. 2009).

10 As lesões cutâneas observadas no Bovino 5, eram características de fotodermatite  
11 confirmada através da epidemiologia tratar-se de *Enterolobium contortisiliquum*, no entanto,  
12 miríades de hifas intralesionais com características morfológicas de zigomicetos da ordem  
13 Mucorales estavam presentes em grande quantidade nas áreas de necrose. Possivelmente, as  
14 alterações hepáticas desencadeadas pela ação tóxica da planta e morte desse animal, não  
15 permitiram a evolução das lesões cutâneas com formação de granulomas, descritas em outras  
16 espécies animais (López-Sanromán et al. 2000, Sauer 2006) e no homem (Umbert et al. 1989,  
17 Arnaiz-Garcia et al. 2009). Os zigomicetos são componentes da flora normal de pele e pelos, e  
18 a infecção ocorre devido à quebra na integridade da pele ocasionada principalmente por traumas  
19 e feridas cirúrgicas (Umbert et al. 1989, Sauer 2006, Arnaiz-Garcia et al. 2009). Nesse caso,  
20 acredita-se que a fotodermatite tenha sido o principal fator predisponente para essa infecção  
21 fúngica.

22 Zigomicoses causadas por *Conidiobolus* spp. não tem sido relatada em bovinos. Nesse  
23 trabalho foi diagnosticado um caso de infecção por *Conidiobolus lampreauges* causando lesões  
24 em linfonodos e pulmão. É importante ressaltar que a infecção por *Conidiobolus* spp. ocorre  
25 frequentemente na cavidade nasal de ovinos, as vezes com metástases para outros órgãos, sendo  
26 responsáveis por mortes com perdas econômicas significativas na região Nordeste (Silva et al.  
27 2007, Riet-Correa et al. 2008, Portela et al. 2010, Mendonça et al. 2012) e em outras regiões do  
28 Brasil (Furlan et al. 2010, Ubiali et al. 2013).

29 Aspergilose foi a segunda infecção fúngica mais diagnosticadas e nos três casos  
30 observados foi caracterizada como infecção secundária. Devido a característica oportunista do  
31 gênero *Aspergillus*, geralmente as infecções por este agente estão associadas a fatores  
32 imunossupressivos incluindo o uso indiscriminado de antimicrobianos, estresse pós-parto,  
33 doenças primárias como rinotraqueíte infecciosa e diarreia viral bovina (Neitzke et al. 1974,  
34 Jensen et al. 1989, Seyedmousavi et al. 2015). No Bovino 6, a infecção por *Aspergillus* ocorreu

1 associada a febre catarral maligna, que foi considerada a infecção primária, responsável pelo  
2 quadro clínico e morte do animal. As lesões fúngicas estavam restritas ao trato respiratório  
3 superior, sugerindo que a fonte de infecção tenha ocorrido através da inalação de esporos desse  
4 agente. É importante ressaltar que casos de aspergilose associados a febre catarral maligna  
5 nunca foram relatados. Apesar de não terem sido observadas lesões no parênquima pulmonar,  
6 pneumonia granulomatosa já foi descrita em bovinos (Galiza et al. 2014), ovinos (Gonzalez et  
7 al. 1993) e caprinos (Carmo et al. 2014), entretanto, a infecção por *Aspergillus* na cavidade  
8 nasal, é a principal forma de apresentação da doença em cães (Benitah 2006, Peeters & Clercx  
9 2007). Aspergilose causando lesões no trato alimentar tem sido descrito em bovinos (Ohshima  
10 et al. 1976, Chihaya et al. 1992ab, Jensen et al. 1994) geralmente associados a fatores  
11 imunossupressivos e no Bovino 7 o estresse pós-parto e a utilização de antibioticoterapia, foram  
12 considerados fatores predisponentes para a infecção. Adicionalmente, é sugerido que a ingestão  
13 de alimentos mofados podem resultar em micose gastrointestinal, principalmente no inverno,  
14 quando silagem e feno, que são importantes fontes de esporos, são oferecidos aos animais  
15 (Jensen et al. 1994). Nesse caso, dados sobre a alimentação não foram relatados. Chama atenção  
16 a semelhança das lesões macroscópicas e microscópicas com as infecções causadas pelos  
17 zigomicetos, que devem ser incluídos como diagnóstico diferencial.

18 As alterações macroscópicas e microscópicas observadas no encéfalo do Bovino 8,  
19 características de infarto, foram atribuídas as propriedades de angioinvasividade verificadas  
20 nesse gênero de fungos, causando vasculite e trombose (Seyedmousavi et al. 2015). Embora  
21 considerada rara, lesões semelhantes foram descritas no sistema nervoso de bovinos (Hatzios  
22 1973, Chihaya et al. 1988b) aves (Dórea et al. 1984), cães (Mullaney et al. 1983), equinos  
23 (Tunev et al. 1999), mamíferos marinhos (Dagleish et al. 2008) e primatas não humanos  
24 (Jurczynski et al. 2012), secundárias a infecção disseminada. Em humanos a infecção do  
25 sistema nervoso por *Aspergillus* spp. pode ocorrer pela via hematogena, como manifestação da  
26 disseminação sistêmica ou por contiguidade, principalmente pelo envolvimento dos seios  
27 paranasais e menos frequentemente após traumatismo crânio-encefálico e manipulação  
28 cirúrgica (Eptein et al 1991, Ashdown et al. 1994, Filho et al. 2005). Neste bovino, a observação  
29 de hifas na luz de vasos sugere disseminação hematogena, embora o sítio primário da infecção  
30 não tenha sido determinado. Traumas ou manipulação cirúrgica não foi relatado nesse caso.  
31 Embora a infecção fúngica tenha sido classificada como oportunista devido o animal ser  
32 positivo para o vírus da diarreia viral bovina, a lesão causada pelo fungo foi responsável pela  
33 determinação do quadro clínico e morte do animal, devendo ser incluída como diagnóstico  
34 diferencial de doenças que afetam o sistema nervoso central de bovinos.

1 Assim como outras infecções fúngicas citadas anteriormente, as infecções por *Candida*  
2 *spp.* são consideradas oportunistas e necessitam de um comprometimento nos mecanismos de  
3 defesa do hospedeiro para estabelecer doença clínica (Giuffrida 2016). A antibioticoterapia  
4 intensa e prolongada pode ser um fator determinante para desencadear candidíase em bovinos  
5 (Seeling 1966, Mills et al. 1967). Wada et al. (1994) relataram um caso de diarreia fatal por  
6 *Candida glabrata* em uma bezerra tratada com seis diferentes antimicrobianos. Entretanto, não  
7 só os antimicrobianos são responsáveis por essa doença fúngica, mas também os fatores  
8 nutricionais como o uso de alimentos ricos em glicose e maltose, as avitaminoses e as doenças  
9 imunodebilitantes (Giuffrida 2016). No Bovino 11, o uso de antimicrobianos, corticoides  
10 associados à idade e doença respiratória intercorrente podem ter favorecido a ocorrência da  
11 infecção, como relatado por Mills et al. (1967). Candidíase em bovinos tem sido descrita  
12 principalmente como causa de mastites (Santos & Marin 2005), placentite e aborto (Foley &  
13 Schlanfer 1987) e lesões gástricas com diarreia (Cross et al. 1970, Wada et al. 1994) e a  
14 presença de placas esbranquiçadas também ocorrem em leitões, cães, gatos, potros (Baxer &  
15 Cadman 1963, Giuffrida 2016) e crianças (Chaudhury et al. 1996).

16

17

## CONCLUSÕES

18 As doenças fúngicas diagnosticadas em bovinos foram zigomicoses, aspergilose, candidíase e  
19 criptococose. Essas doenças foram pouco frequentes e ocorreram de forma esporádica, com  
20 manifestações clínicas que variaram de acordo com a localização da infecção e agente  
21 envolvido. A zigomicose foi a doença fúngica mais frequente, afetando principalmente o trato  
22 alimentar de bovinos. A utilização de antibióticos pode ser considerado um fator predisponente  
23 para ocorrência de doenças fúngicas oportunistas.

24

25 **Agradecimentos** - Ao CNPq pelo financiamento do Projeto - Edital Universal (Processo n<sup>o</sup>  
26 474602/2012-5) e Bolsa de Produtividade (Processo n<sup>o</sup> 302082/2014-0).

27

28

## REFERÊNCIAS

29 Armstrong D. 1989. Problems in management of opportunistic fungal disease. 11(7):1591-  
30 1599.  
31 Arnaiz-Garcia M.E., Alonso-Pena D., Gonzalez-Vela M. del C., Garcia-Palomo J.D., Sanz-  
32 Gimenez J.R & Arnaiz-Garcia A.M. 2009. Cutaneous mucormycosis: report of five cases and  
33 review of the literature. J. Plast. Reconst. Aesthetic Sug.62:434-441.

- 1 Ashdown B.C., Tien R.D. & Felsberg G.J. 1994. Aspergillosis of the brain and paranasal  
2 sinuses in immunocompromised patients: CT and MR imaging findings. Am.J.  
3 Roentgenol.162:155-159.
- 4 Baxer E. D. & Cadman L. P. 1963. Candidiasis in Pigs in Northwestern Wisconsin. Amer. Vet.  
5 Med. Ass.142:763-767.
- 6 Benitah N. 2006. Canine nasal aspergillosis. Clin. Tech. Small. Anim. Pract.21:92-99.
- 7 Blitzer A. & Lawson W. 1993. Fungal infections of the nose and paranasal sinuses. Otolaryngol.  
8 Clin. North. Am. 26(6):1007-1035.
- 9 Câmara A.C.L., Soto-Blanco B., Batista J.S., Vale A.M., Feijó F.C.M. & Olinda R.G. 2011.  
10 Rhinocerebral and rhinopharyngeal conidiobolomycosis in sheep. Ciencia Rural. 41:862-  
11 868.
- 12 Carmo P.M.S., Portela R.A., Oliveira-Filho J.C., Dantas A.F.M., Simões S.V.D., Garino Jr.F.  
13 & Riet-Correa F. 2014. Nasal and Cutaneous Aspergillosis in a Goat. J. Comp. Path.150:4-  
14 7.
- 15 Chaudhury A., Nath G. & Shukia B. 1996. Diarrhea associated with *Candida species*: Incidence  
16 and seasonal variation. J. Diarrhoeal. Dis. Res. 14:110-112.
- 17 Chihaya Y., Matsukawa K. & Okada H. 1986. A case of bovine cerebral mucormycosis. J. Vet.  
18 Med. Sci. 48:1271-1274.
- 19 Chihaya Y., Matsukawa K., Mizushima S. & Matsui Y. 1988a. Ruminant forestomach and  
20 abomasal mucormycosis under rumen acidosis. Vet. Pathol.25:119-123.
- 21 Chihaya Y., Matsukawa K., Furusawa Y., Hatta Y., Okada H. & Arisawa K. 1988b.  
22 Disseminated Aspergillosis with lesions in the central nervous system in a calf. J.Vet.Med.  
23 Sci. 50(1):131-137.
- 24 Chihaya Y., Okada H., Matsukawa K. & Matsui Y. 1992a. Disseminated mycoses in cattle: a  
25 study on nine autopsy cases. J. Vet. Med. Sci. 54:485-491.
- 26 Chihaya Y., Matsukawa K., Ohshima K., Matsui Y., Ogasa K., Furusawa Y. & Okada H. 1992b.  
27 Pathological studies on systemic mycoses in calves. J.Vet. Med. Sci. 53(6):1051-1058.
- 28 Ciuderis-Aponte, K. A. & Ochoa-Amaya, J. E. 2009. Meningoencefalitis zigomicotica  
29 piogranulomatosa en un puercoespín de cola prensil (*Coendou Prehensilis*). Int.J. Morphol.  
30 27(4):1187-1194.
- 31 Connole M.D. 1967. A Review of Animal Mycoses in Australia. Vet. Bulletin. 37(3):145-153.
- 32 Corbellini L.G., Pescador C.A., Frantz F.J., Lima M., Ferreiro L. & Driemeier D. 2003. Aborto  
33 por *Aspergillus fumigatus* e *A. niger* em bovinos no sul do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 23(2):82-  
34 86.

- 1 Cordes D.O. & Shortridge E.H. 1968. Systemic phycomycosis and aspergilosis of cattle. N. Z.  
2 Vet. J. 16:65-80.
- 3 Cross R.F., Moorhead P.D. & Jones J.E. 1970. *Candida albicans* infection of the forestomachs  
4 of a calf. J. Am. Vet. Med. Assoc. 57:1325-1330.
- 5 Dagleish M.P., Foster G. & Howie F.E. 2008. Fatal mycotic encephalitis caused by *Aspergillus*  
6 *fumigatus* in a northern bottlenose whale (*Hyperoodon ampullatus*). Vet. Rec. 163(20): 602–  
7 604.
- 8 De Lahunta A., Van Kruiningen H., Cummings J. & Kallfelz F. 1967. Clinical pathological  
9 conference on mycotic rumenitis (mucormycosis) and postpartum metritis. Cornell  
10 Vet.57:308-322.
- 11 Dial S.M. Fungal Diagnostics: Current Techniques and Future Trends. 2007. Vet. Cli. S. A.  
12 Pract. 37(2):373-392.
- 13 Dion W.M., Bundza A., Dukes T.W. 1987. Mycotic lymphadenitis in cattle and swine. Can.  
14 Vet. J. 28:57–60.
- 15 Dórea E.M.A., Santos J.A. & Santangelo C. 1984. Aspergilose cerebral em pintos. Pesq. Agrop.  
16 Bras. 19(6):773-776.
- 17 Elinav H., Zimhony O., Cohen M.J., Marcovich A.L. & Benenson S. 2009. Rhinocerebral  
18 mucormycosis in patients without predisposing medical conditions: a review of the  
19 literature. Clin. Microbiol. Infect. 15(7):693-697.
- 20 Epstein N.E., Hollingsworth R., Black K. & Framer P. 1991. Fungal brain abscess  
21 (aspergillosis/mucormycosis) in two immunosuppressed patients. Surg.Neurol. 35:286-289.
- 22 Filho G.P., Pedroso E.R.P., Giannetti A.V. & Darwich R. 2005. Aspergilose cerebral em  
23 paciente imunocompetente. Arq. Neuropsiquiatr. 63(4):1094-1098.
- 24 Foley G. L. & Schlafer D. H. 1987. Candida Abortion in Cattle. Vet. Pathol. 24:532-536.
- 25 Furlan F.H., Lucioli J., Veronezi L.O., Fonteque J.H., Traverso S.D., Nakazato L. & Gava A.  
26 2010. Conidiobolomycose causada por Conidiobolus lamprauges em ovinos no estado de  
27 Santa Catarina. Pesq. Vet. Bras. 30:529-532.
- 28 Galiza G.J.N., Silva T.M., Caprioli R.A., Barros C.S.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Lovato  
29 M. & Kommers G.D. 2014. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230  
30 casos. Pesq. Vet. Bras. 34(3):224-232.
- 31 Garcia M.E. & Blanco J.L. 2000. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales  
32 domésticos. Ver. Iber. Micol. 17:2-7.



- 1 Giuffrida R. 2016. Enfermidades pelo gênero *Candida*. p. 907-910. In: Megid J.,Ribeiro M.G.  
2 & Paes A.C. Eds Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia. Rio de  
3 Janeiro:Roca
- 4 Gleiser C.A. 1953. Mucormycosis in animals. A report of three cases. J. Am. Vet.Med.123:441-  
5 445.
- 6 Gonzalez J.F., De Las Heras M., Garcia De Jalon J.A. & Barcena C. 1993.Pulmonary  
7 aspergilosis in young lambs. Vet. Iberoam. Micol. 10(4):98-99.
- 8 Grooters A.M. & Foil C.S. 2006. Miscellaneous fungal Infection, p.637-650. In: Greene C.E.  
9 (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis
- 10 Hatzios B.C. 1973. Systemic aspergilosis in a calf. Bull. Hellenic. Vet. Med. Soc. 24:75-86.
- 11 Hillman R.B. 1969. Bovine mycotic placentitis in New York State. Corn. Vet. Pathol. 59:269-  
12 288.
- 13 Jensen H.E., Basse A. & Aalbzck B. 1989. Mycosis in the stomach compartments of cattle. Acta.  
14 Vet. Scand. 30:409-423.
- 15 Jensen H.E. 1994. Systemic bovine aspergillosis and zygomycosis in Denmark with reference  
16 to pathogenesis, pathology and diagnosis. APMIS Suppl 42:1–48.
- 17 Jurczynski K., Gruber-Dujardin E. & Widmer D. 2012. Invasive aspergillosis in a putty-nosed  
18 monkey (*Cercopithecus nictitans*) with adrenocortical Cushing’s syndrome. J.Med.  
19 Primatol. 41(3): 172–175.
- 20 Knudtson W.U., Wohlgemuth K. & Bury R.J. 1973. Bovine cerebral mucormycosis: Report o  
21 f a case. Sabouraud. 11(3):256-258.
- 22 López-Sanromán, Payá, Cutuli & González. 2000. Cutaneous mucormycosis caused by *Absidia*  
23 *corymbifera* in a horse. Vet. Dermat. 11:151–155.
- 24 Mendonça F.S., Albuquerque R.F., Evêncio-Neto J., Dória R.G.S, Camargo L.M. & Freitas  
25 S.H. 2012. Conidiobolomycosis in sheep in the State of Pernambuco. Rev. Bras. Med. Vet.  
26 34(3):241-246.
- 27 Mills J.H.L. & Hirth R.S. 1967. Systemic candidiasis in calves on prolonged antimicrobial  
28 therapy. J. Am. Vet. Med. Assoc. 150:862-870.
- 29 Mullaney T.P., Levin S. & Indrieri R.J. 1983. Disseminated aspergillosis in a dog. J. Am. Vet.  
30 Med. Assoc. 182:516–518.
- 31 Neitzke J.P. & Schiefer B. 1974. Incidence of mycotic gastritis in calves up to 30 days of age.  
32 Can. Vet. J. 15: 139-144.

- 1 Ohshima K., Miura S. & Seimiya Y. 1976. Pathological studies on mucormycosis of the  
2 forestomach and abomasum in ruminants: a report on six cases complicated with candidiasis  
3 or pulmonary aspergillosis. J. Vet. Sci. 38:269-280.
- 4 Peeters D. & Clercx C. 2007. Update on canine sinonasal aspergillosis. Vet. Clin. North. Am.  
5 Small. Anim. Pract. 37(5):901-916.
- 6 Portela R.A., Riet-Correa F., Garino-Junior F., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Silva S.M.S.  
7 2010. Doenças da cavidade nasal em ruminantes no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 30(10):844-  
8 854.
- 9 Quevedo L.S., Silveira C.S., Schreiner T., Diefenbach A. & Anjos B.L. 2015. Surto de acidose  
10 ruminal em criação semiextensiva de bovinos de corte - Relato de caso. Ver. Bras. Med. Vet.  
11 37(3):269-274.
- 12 Radostits O., Gay C., Blood D., Hinchcliff K. 2000. Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, and  
13 Horses, pp. 1279-1281. Veterinary Medicine:New York, WB Saunders
- 14 Ramos-Vara J.A. & Beissenherz M.E. 2000. Optimization of immunohistochemical methods  
15 using two different antigen retrieval methods on formalin-fixed paraffin-embedded tissues:  
16 experience with 63 markers. J. Vet. Diagn. Invest. 12(4):307-311.
- 17 Ravisse P., Fromentin H., Destombes P. & Mariat F. 1978. Cerebral mucormycosis in the cat  
18 caused by *Mucor pusillus*. Sabourand. 16(4): 291-298.
- 19 Riet-correa F., Dantas A.F.M., Azevedo E.O., Simões S.D.V., Silva S.M.S., Vilela R. &  
20 Mendoza L. 2008. Outbreaks of rhinofacial and rhinopharyngeal zygomycosis in sheep in  
21 Paraíba, northeastern Brazil. Pesq. Vet. Bras. 28(1) 29-35.
- 22 Riet-Correa F., Krockenberger M., Dantas A.F.M. & Oliveira D.M. 2011. Bovine cryptococcal  
23 meningoencephalitis. J. Vet. Diagn. Invest. 23 (5):1056-1060.
- 24 Santos R.C. & Marin J.M. 2005. Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil.  
25 Mycophatol. 159:251-253.
- 26 Sauer R.M. 1966. Cutaneous mucormycosis (phycomycosis) in a squirrel (*Sciurus*  
27 *carolinensis*). Am. J.Vet. Res. 27:380-383.
- 28 Seelig M.S. 1966. The role of antibiotics in the pathogenesis of *Candida* infections Am.J.Med.  
29 40:887-917.
- 30 Seyedmojtaba S., Guillot J., Arné P., De Hoog G.S., Mouton J.W., Melchers W.J.G. & Verweij  
31 P.E. 2015. *Aspergillus* and aspergillosis in a wild and domestic animals: a global health  
32 concern with parallels to human disease. Med. Mycol. 53:765-797.

- 1 Sheridan J.J, 1981. The relationship of systemic phycomycosis and aspergillosis in cattle  
2 showing clinical signs of disease, to the occurrence of lesions in different organs. *Vet. Res.*  
3 *Commun.* 5:1-12.
- 4 Silva S.M.M.S., Castro R.S., Costa F.A.L., Vasconcelos A.C., Batista M.C.S., Riet-Correa F.  
5 & Carvalho E.M.S. 2007. Epidemiologia e sinais clínicos da conidiobolomicose em ovinos  
6 no Estado do Piauí. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4):184-190.
- 7 Silva S.T.G., Souza J.C.A., Mendonça C.L., Izael M.A., Dantas A.F.M, Portela R.A, Riet-  
8 Correa F & Afonso J.B.A. 2010. Nasal cryptococcosis in a sheep in Brazilian semi-arid.  
9 *Braz. J. Vet. Pathol.* 3(2):127-130.
- 10 Sukumar K. & James P.C. 2012. Incidence of fungal mastites in cattle. *J. Vet. Anim. Scienc.* 8  
11 (6):356-359.
- 12 Tunev S.S., Ehrhart E.J., Jensen H.E., Foreman J.H., Richter R.A. & Messick J.B. 1999.  
13 Necrotizing mycotic vasculitis with cerebral infarction caused by *Aspergillus niger* in a  
14 horse with acute typhlocolitis. *Vet. Pathol.* 36:347–351.
- 15 Vasconcelos D. Y. & Grahn B.H. 1995. Disseminated Rhizopus Infection with Ocular  
16 Involvement in a Calf. *Vet. Pathol.* 32:78-81.
- 17 Ubiali D.G., Cruz R.A.S., De Paula D.A.J, Silva M.C, Mendonça F.S., Dutra V., Nakazato L.,  
18 Colodel E.M. & Pescador A. 2013. Pathology of nasal infection caused by *Conidiobolus*  
19 *lamprauges* and *Pythium insidiosum* in sheep. *J.Comp. Pathol.* 149:137-145.
- 20 Umbert I.J., Su D.1989. Cutaneous mucormycosis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 21:1232-1234.
- 21 Wada Y., Nakaoka Y. & Ikeda T. 1994. Candidiasis caused by *Candida glabrata* in the  
22 forestomachs of a calf. *J. Comp. Pathol.* 111(3):315-319.
- 23 Weber, M. N., Mósena, A. C. S., Simões, S. V. D., Almeida, L. L., Pessoa, C. R. M.,  
24 Budaszewski, R. F., Silva T.R., Ridpath J.F., Riet-Correa F., Driemeier D & Canal, C. W.  
25 2014. Clinical Presentation Resembling Mucosal Disease Associated with ‘HoBi’-like  
26 Pestivirus in a Field Outbreak. *Transb. emerg. Dis.* 63(2016):92-100.

27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

## Legendas das figuras

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

Fig. 1 - Zigomicoses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Rúmen. Observa-se na superfície de corte, área focal amarronzada com espessamento da submucosa. B) Superfície de corte de fragmento de miocárdio demonstrando trombo aderido a valva atrioventricular esquerda (asterisco). C) Rim. Observam-se áreas multifocais avermelhadas irregulares e nódulos multifocais amarelados na superfície subcapsular. D) Rim. Superfície de corte. Verifica-se infarto na cortical e medular. Órgãos fixados em formol.

Fig. 2 - Zigomicoses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Rúmen. Observa-se corte longitudinal de hifa levemente basofílica circundada por neutrófilos na submucosa. HE. B) Rúmen. Observa-se na submucosa cortes longitudinais de hifas coradas em rosa circundadas por neutrófilos e fibrina. PAS. C) Rim. Observam-se múltiplas hifas irregulares impregnadas em preto na luz de vasos. GMS. D) Rúmen. Imunomarcacão positiva de hifas para *Rhizopus arrhizus*. IHQ.

Fig. 3 - Aspergiloses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Cavidade nasal. Corte sagital. Observa-se na mucosa das conchas e meatos nasais exsudato amarelado, com material esbranquiado e acinzentado. B) Observa-se na mucosa da traqueia e brônquios exsudato amarelado e material esbranquiado. C). Encéfalo. Verifica-se assimetria do hemisfério cerebral direito e área focalmente extensa avermelhada e irregular nas leptomeninges do córtex occipital direito. D) Observam-se em cortes transversais do encéfalo fixado em formol, assimetria do hemisfério direito, mais volumoso e áreas acinzentadas com cavitações nas substâncias branca e cinzenta estendendo-se do córtex occipital ao córtex temporal e compressão da porção do tálamo e colículo.

Fig. 4 - Aspergiloses em bovinos no Nordeste do Brasil. A) Traqueia. Observam-se miríades de hifas basílicas associada a neutrófilos degenerados na superfície da mucosa. HE. B) Córtex occipital. Observam-se nos vasculite e trombos nas leptomeninges e no neurópilo adjacente. HE. C) No lúmen da traqueia (asterisco) observam-se conidióforos impregnados em preto. GMS. D) Observam-se no lúmen da traqueia (asterisco) hifas e conidióforos (setas) corados em rosa associada a restos necróticos. PAS. E) Verificam-se hifas fortemente coradas em rosa. PAS. F) Pulmão. Imunomarcacão positiva das hifas em marron para *Aspergillus* spp. IHQ.

1 Fig. 5 - Candidíase em bovino no Nordeste do Brasil. A) Pré-estômagos. Observa-se material  
2 esbranquiçado, recobrando a mucosa do rúmen, retículo e omaso. B) Rúmen. Observam-se áreas  
3 multifocais de ulcerações na mucosa e material esbranquiçado, grumoso adjacente. C) Rúmen.  
4 Observam-se hifas fracamente basofílicas (setas) em meio a neutrófilos e fibrina na superfície  
5 da mucosa. HE. D) Observa-se imunomarcção das hifas em marron para *Candida albicans*.  
6 IHQ.

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

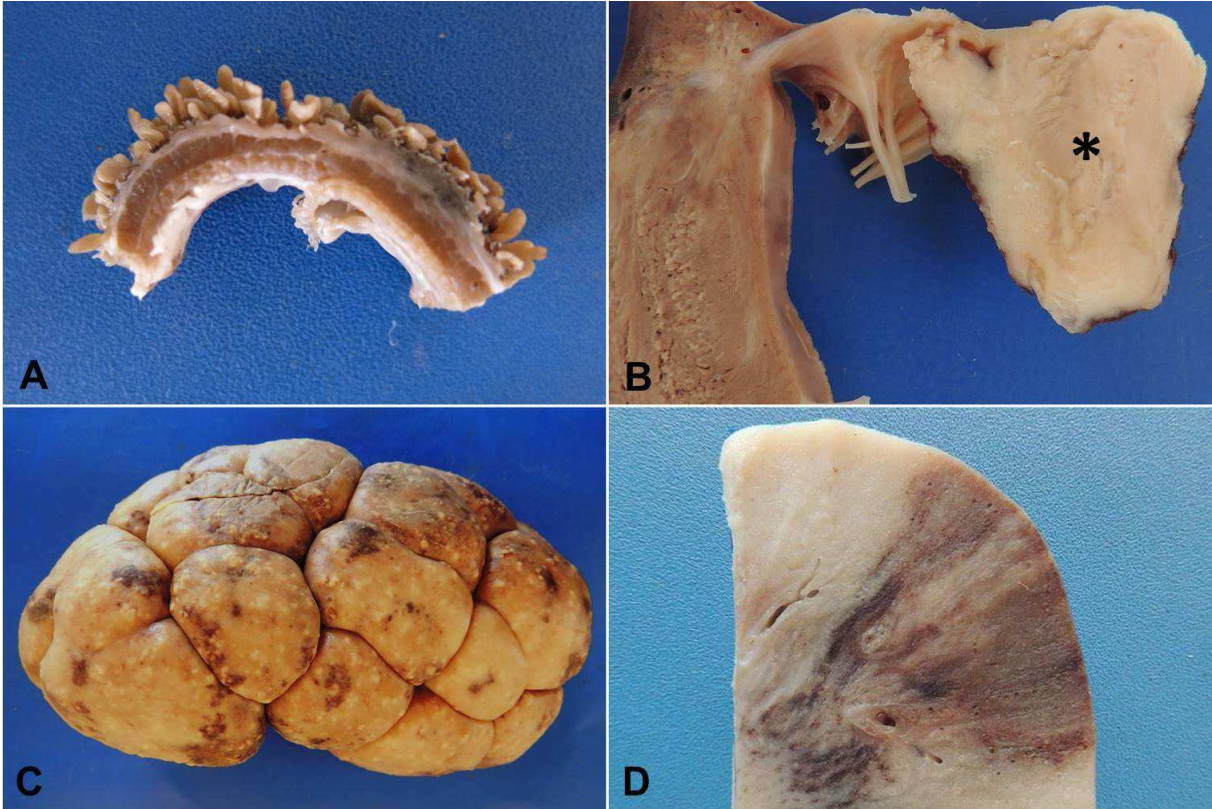
32

33

1 **Quadro 1.** Descrição dos protocolos de imuno-histoquímica utilizados com os anticorpos anti-  
 2 *Rhizopus-arrhizus*, anti-*Aspergillus* spp., anti-*Conidiobolus lamprauges* e anti-*Candida albicans*.

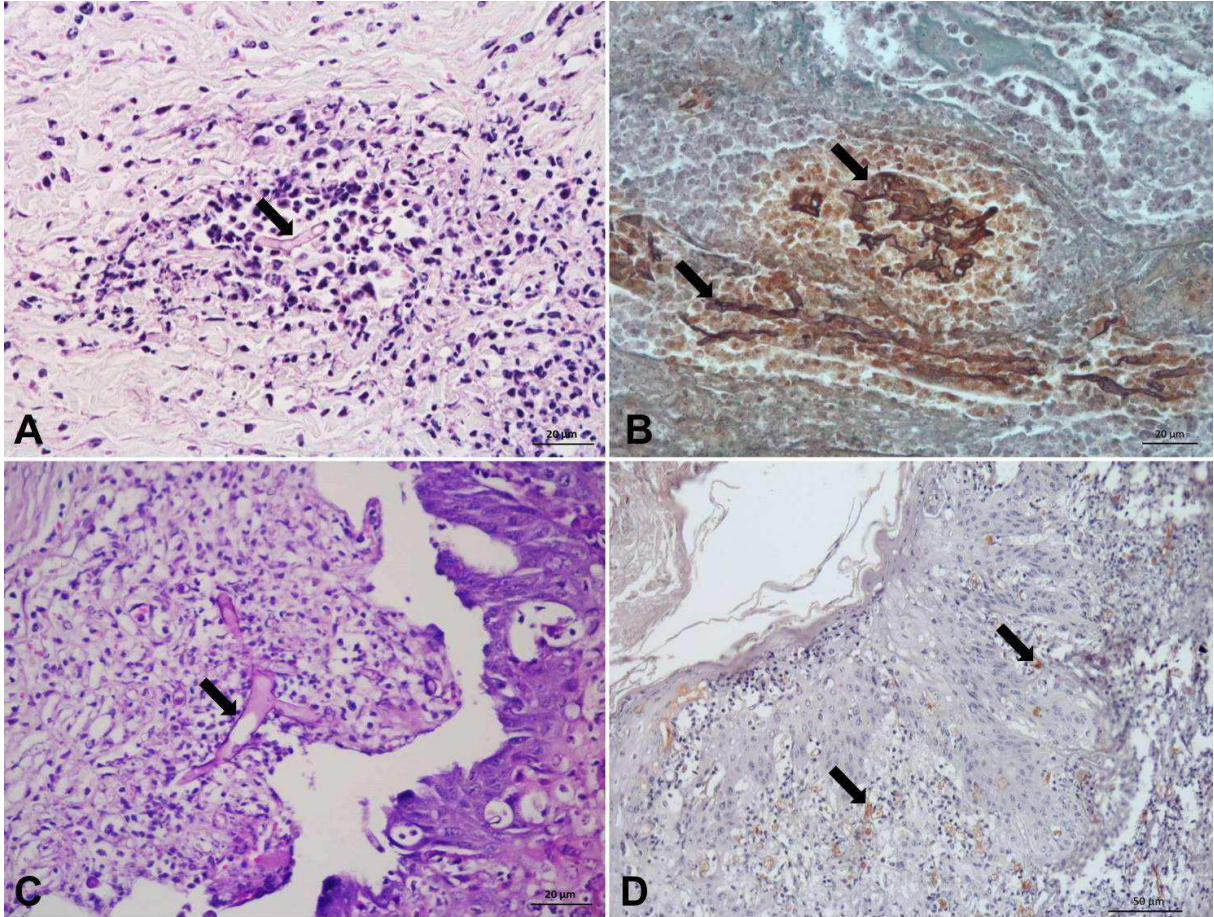
Anticorpo	Recuperação Antigênica	Diluição	Incubação	Amplificador	Cromógeno
Anti- <i>Rhizopus arrhizus</i>	Tris-EDTA	1:50	1h/37°C	Polímero Easy Link One (EasyPath) <sup>a</sup> 20 min/ 25 °	DAB <sup>b</sup>
Anti- <i>Aspergillus</i> spp.	Tris-EDTA	1:300	1h/37°C	Polímero Easy Link One (EasyPath) <sup>a</sup> 20 min/ 25 °	DAB <sup>b</sup>
Anti- <i>Conidiobolus lamprauges</i>	Tris-EDTA	1:500	1h/37°C	Polímero Easy Link One (EasyPath) <sup>a</sup> 20 min/ 25 °	DAB <sup>b</sup>
Anti- <i>Candida albicans</i>	Tris-EDTA	1:1.000	1h/37°C	Polímero Easy Link One (EasyPath) <sup>a</sup> 20 min/ 25 °	DAB <sup>b</sup>

3 <sup>a</sup>Easy Link One = Amplificador + Polímero HRP (EasyPath). <sup>b</sup>DAB = Liquid DAB (3,3'  
 4 diaminobenzidine) + substrate-Chromogen System (DAKO).  
 5  
 6  
 7  
 8  
 9  
 10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15  
 16  
 17  
 18  
 19  
 20  
 21  
 22  
 23  
 24  
 25  
 26



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20

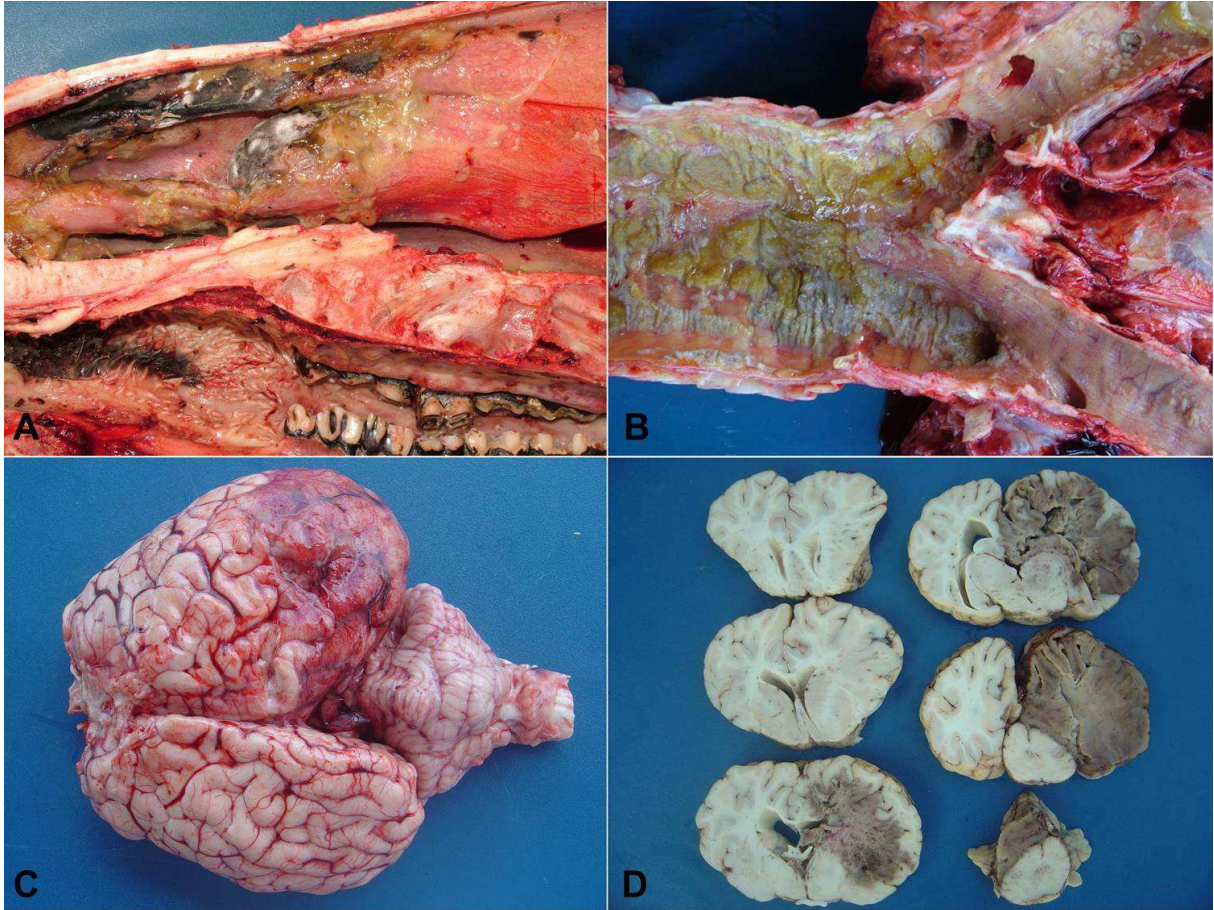
**Figura 1**



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18

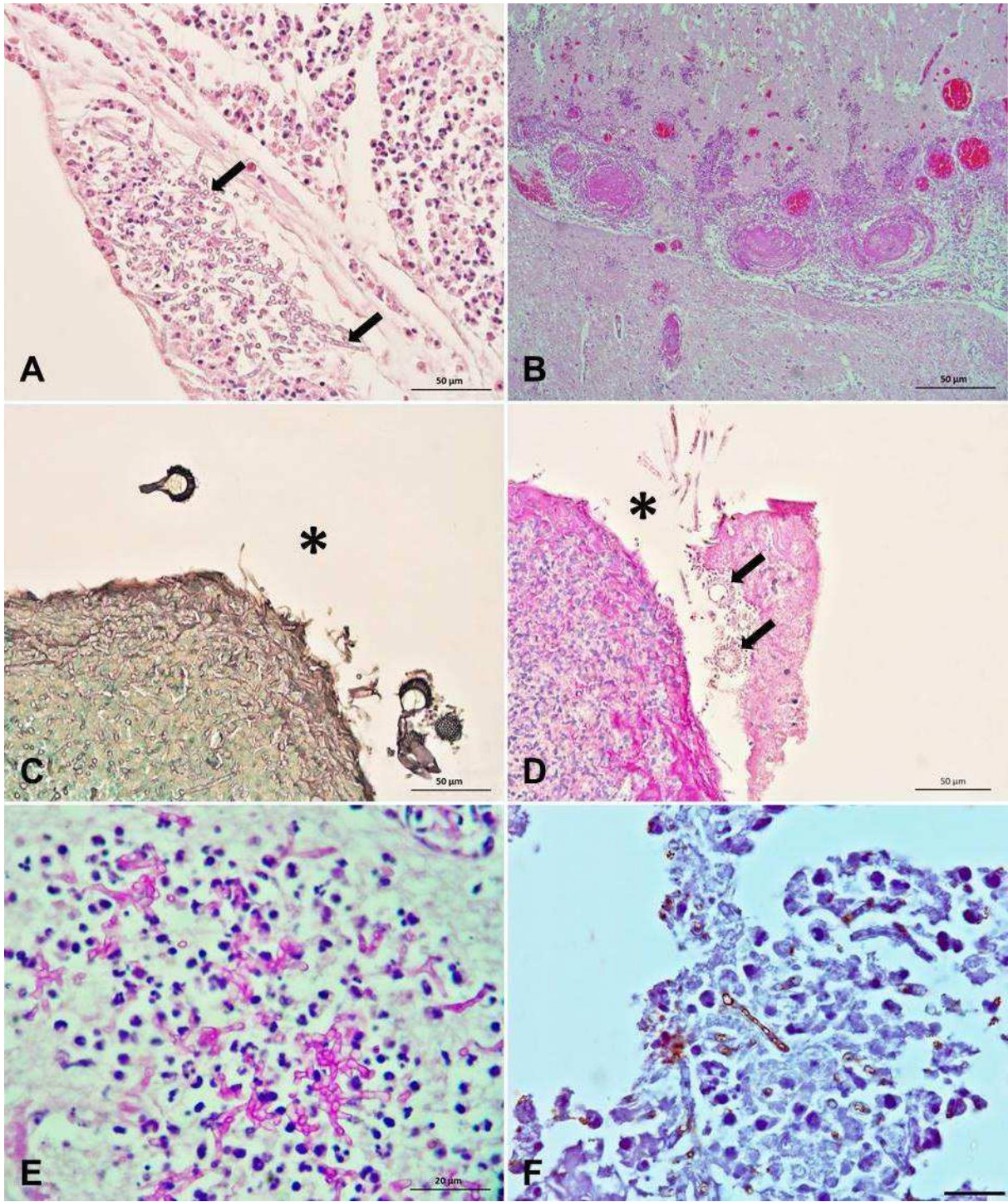
**Figura 2**





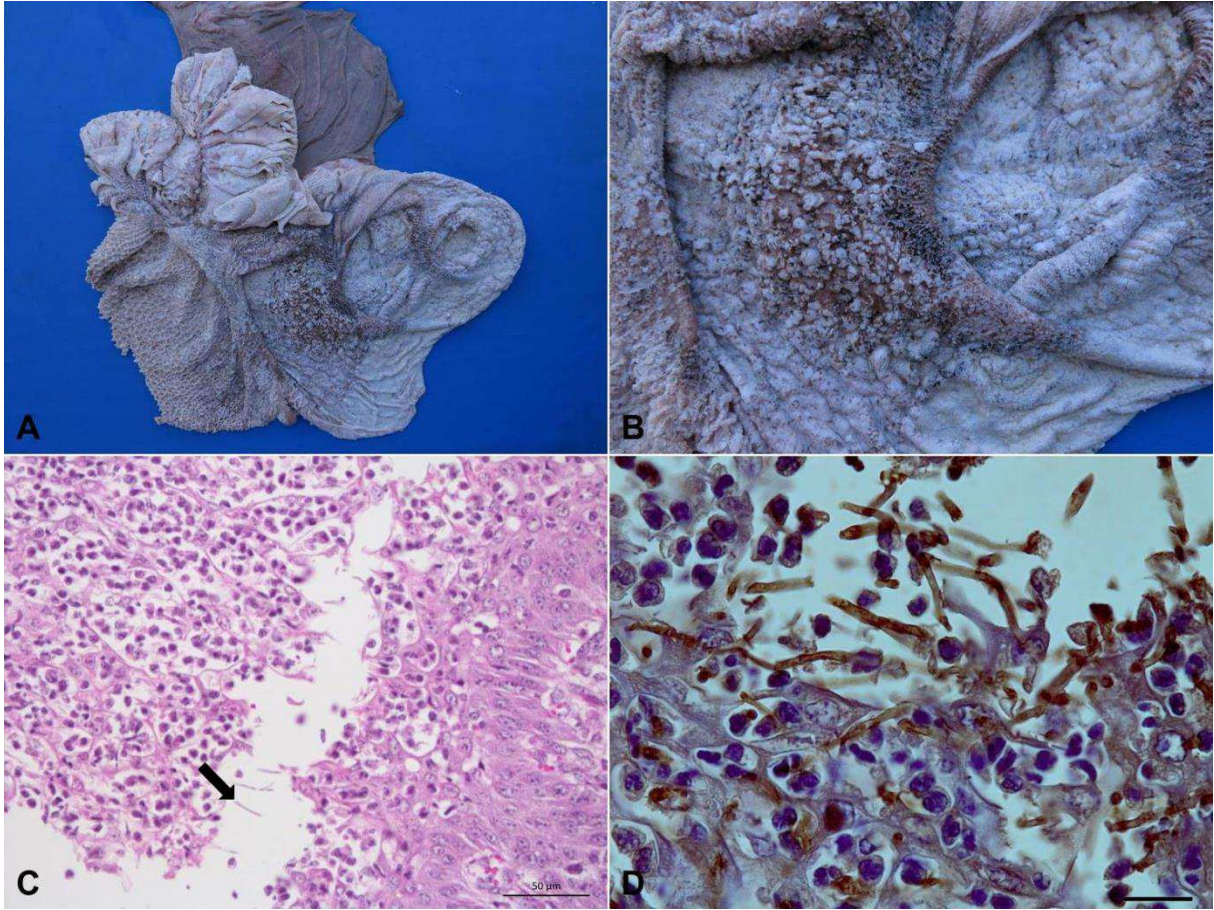
1  
2 **Figura 3**

- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

**Figura 4**



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18

**Figura 5**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

## **CAPÍTULO II**

### **PITIOSE EM BOVINOS NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL**

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira (anexo 1).

## Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil<sup>2</sup>

Lisanka A. Maia<sup>2\*</sup>, Robério G. Olinda<sup>2</sup>, Maria T. S. Frade<sup>2</sup>, Luciano A. Pimentel<sup>3</sup>, Edísio O. Azevedo<sup>4</sup>, Glaucia D. Kommers<sup>5</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>6</sup>, Antônio F. M. Dantas<sup>6</sup>

**ABSTRACT.-** Maia L.A., Olinda R.G., Frade M.T.S., Pimentel L.A., Azevedo E.O., Kommers G.D., Riet-Correa F. & Dantas A.F.M. 2016. [Pythiosis in cattle in Northeastern Brazil] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Hospital Veterinário, Laboratório de Patologia Animal, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: lisankavet@hotmail.com.br

The epidemiological, clinical and pathological aspects of three cases of cutaneous pythiosis in cattle in the Northeast of Brazil are described. Epidemiological and clinical data were obtained during visits to farms with suspected cases of the disease. A biopsy of the lesions of one bovine from each visited farm was performed. The material was fixed in 10% buffered formalin, cleaved, routinely processed and made histological slides that were stained by hematoxylin eosin (HE). Selected, histological sections of the lesions were submitted to histochemistry with methenamine silver nitrate from Grocott (GMS) and periodic acid from Schiff (PAS) to visualize the hyphae. Immunohistochemistry (IHC) with anti-*Pythium insidiosum* antibody was used for the confirmation of the agent. In all cases, of affected cattle contact with water accumulated in dams or irrigation channels was reported. Clinically, lesions were observed mainly on the skin of the thoracic and/or pelvic limbs, characterized by flat and irregular ulcerated areas or nodules of varying sizes, some with fistulated tracts, which were cut deep into the subcutaneous tissue. In one case there were involvement of superficial lymph nodes. Histologically, piogranulomatous inflammation associated with hyphae not stained by HE was observed in all cases. In the sections impregnated by the GMS hyphae were observed

---

\* Recebido em

Aceito para publicação em

<sup>2</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Av. Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, 58708-110, Patos, PB. \*Autor para correspondência:lisankavet@hotmail.com

<sup>3</sup> Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, BA.

<sup>4</sup> Docente da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, São Cristóvão, Sergipe, AL.

<sup>5</sup> Docente do Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS.

<sup>6</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Patos- PB.

1 2-28 µm in diameter, thick, with irregular ramifications and rare septations. This was these  
2 hyphae did not stained by PAS. In IHC, there were strong immunostaining for *Pythium*  
3 *insidiosum*. The diagnosis was made based on the epidemiological, clinical and pathological  
4 aspects, associated to the morphotintorial characteristics of the agent and confirmed its etiology  
5 by IHC. It is concluded that pythiosis occurs in cattle in the Northeast region of Brazil, with  
6 similar epidemiological, clinical and pathological characteristics of other regions, with attention  
7 to the coastal region, and that should be included in the differential diagnosis of other  
8 dermatopathies of cattle of the region.

9

10 INDEX TERMS: *Pythium insidiosum*, oomycete, dermatitis, cattle.

11

12 **RESUMO.-** Descreveu-se os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de três casos de  
13 pitiose cutânea em bovinos na região Nordeste do Brasil. Os dados epidemiológicos e clínicos  
14 foram obtidos durante visitas as fazendas com casos suspeitos da doença. Foi realizada biópsia  
15 das lesões de um animal de cada fazenda visitada. O material foi fixado em formol tamponado  
16 a 10%, clivados, processados rotineiramente e confeccionadas lâminas histológicas que foram  
17 coradas pelo hematoxilina eosina (HE). Em seguida, foram selecionados cortes histológicos das  
18 lesões e realizadas colorações histoquímicas como metenamina nitrato de prata de Grocott  
19 (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS) para visualização das hifas. Para a confirmação do  
20 agente foi utilizada a técnica de imuno-histoquímica (IHQ) com anticorpo anti-*Pythium*  
21 *insidiosum*. A doença ocorreu em bovinos adultos e jovens de regiões de clima semiárido dos  
22 Estados da Paraíba e Ceará e no litoral de Sergipe. Em todos os casos foi relatado o contato dos  
23 bovinos com água acumulada em açudes ou canais de irrigação. Clinicamente foram observadas  
24 lesões principalmente na pele dos membros torácicos e/ou pélvicos, caracterizadas por áreas  
25 ulceradas planas e irregulares ou nódulos de tamanhos variados, alguns com tratos fistulados,  
26 que ao corte se aprofundavam no tecido subcutâneo. Em um caso havia envolvimento de  
27 linfonodos superficiais. Histologicamente, verificou-se em todos os casos inflamação  
28 piogranulomatosa associada a hifas não coradas pela HE. Nas secções impregnadas pela GMS  
29 foram observadas hifas de 2 a 28 µm de diâmetros, com paredes espessas e paralelas, com  
30 ramificações irregulares e raras septações. Essas hifas não foram coradas pelo PAS. Na IHQ  
31 obteve-se forte imunomarcção para *Pythium insidiosum*. O diagnóstico foi realizado com base  
32 nos aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos, associados às características  
33 morfotintoriais do agente e confirmado sua etiologia pela IHQ. Conclui-se que a pitiose ocorre  
34 em bovinos na região Nordeste do Brasil, com características epidemiológicas, clínicas e

1 patológicas semelhantes de outras regiões, com atenção para a região litorânea, e que deverá  
2 ser incluída no diagnóstico diferencial de outras dermatopatias de bovinos da região.

3

4 TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Pythium insidiosum*, oomiceto, dermatite, bovino.

5

6

## INTRODUÇÃO

7 Pitiose é causada pelo *Pythium insidiosum*, um oomiceto aquático do reino *Straminipila* que  
8 afeta várias espécies de animais domésticos, silvestres e o homem (Santurio et al. 2006, Gaastra  
9 et al. 2010). A ocorrência da doença está relacionada com o contato dos animais com águas  
10 contendo zoósporos móveis que constitui a forma infectante do agente (Santurio et al. 2006;  
11 Gaastra et al. 2010).

12 Pitiose em bovinos é considerada infrequente e já foi descrita nos Estados Unidos,  
13 Venezuela, Colombia e no Brasil (Miller et al. 1985, Pérez et al. 2005, Grecco et al. 2009,  
14 Santos et al. 2011, Cordona et al. 2012). A baixa ocorrência da doença nessa espécie tem sido  
15 atribuída principalmente à recuperação espontânea das lesões (Santurio et al. 1998, Grecco et  
16 al. 2009). No Brasil, embora a doença ocorra com maior frequência nos equinos, casos de  
17 pitiose em bovinos tem sido diagnosticados na região do Pantanal (Santurio et al. 1998, Santos  
18 et al. 2011) e nas regiões Oeste (Gabriel et al. 2008) e Sul do Rio Grande do Sul (Grecco et al.  
19 2009).

20 Em estudo realizado sobre doenças de pele em equinos na região Nordeste do Brasil, a  
21 pitiose representou 24,38% dos casos estudados (Pessoa et al. 2014). Além dessa espécie,  
22 também têm sido diagnosticados várias formas clínicas da doença em ovinos, incluindo a forma  
23 cutânea (Tabosa et al. 2004), nasal (Portela et al. 2010) e digestiva (Pessoa et al. 2012). Casos  
24 esporádicos com envolvimento cutâneo também foram relatados em um caprino (Do Carmo et  
25 al. 2015), em três muares (Tabosa et al. 1999) e recentemente em um asinino (Maia et al. 2016).  
26 No entanto, não há relatos da doença afetando bovinos nessa região. Dessa forma, objetivou-se  
27 descrever os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos da pitiose em bovinos na região  
28 Nordeste do Brasil.

29

30

## MATERIAL E MÉTODOS

31 As informações incluídas neste estudo foram obtidas através de visitas a fazendas com casos  
32 suspeitos de pitiose cutânea em bovinos. Foram coletados dados epidemiológicos e clínicos, e  
33 realizadas biópsias cutâneas em um animal de cada fazenda visitada. Biópsia de linfonodo  
34 também foi realizada em um bovino. O material coletado foi fixado em formol tamponado a

1 10%, clivados, processados rotineiramente e confeccionadas lâminas histológicas coradas pela  
2 hematoxilina e eosina (HE).

3 Para a caracterização morfotintorial das hifas foram realizadas colorações histoquímicas  
4 especiais de metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS).  
5 Além disso, as imagens fotografadas e o diâmetro das hifas foram obtidas através de um  
6 microscópio Axio Scope.A1 câmera digital Axio Cam MRc5, controlada pelo programa Zen  
7 2012.

8 A identificação do agente foi realizada através da técnica de imuno-histoquímica (IHQ) em  
9 fragmentos com lesões cutâneas e de linfonodo. O protocolo de IHQ foi realizado de acordo  
10 com Martins et al. (2012) usando anticorpo policlonal (*anti-P. insidiosum*) produzido em  
11 coelhos (Gabriel et al. 2008). Utilizou-se o anticorpo primário a uma diluição de 1:1000 ligado  
12 ao complexo estreptavidina-biotina-fosfatase alcalina e revelado com Permanent Red (Dako,  
13 Carpinteria, CA, USA) por 60 minutos. Como controle positivo, foram utilizadas secções  
14 histológicas de um caso confirmado de pitiose em equino, e como controle negativo, as mesmas  
15 secções, com substituição do anticorpo primário por solução salina tamponada com fosfato  
16 (PBS) contendo 0,5% de Tween 20 (PBST).

17

18

## RESULTADOS

### 19 **Epidemiologia**

20 Foram diagnosticados três casos de pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. O  
21 primeiro ocorreu no mês de novembro de 2007, no município de São Mamede, na mesorregião  
22 do Sertão do Estado da Paraíba, de clima semiárido. Nessa fazenda o rebanho era composto de  
23 50 bovinos e a doença foi observada em apenas um animal. Os bovinos eram criados em regime  
24 semi-extensivo, alimentados com capim elefante e tinham acesso a açude.

25 O segundo caso ocorreu no município de Japarutuba, na mesorregião leste do Estado de  
26 Sergipe, de clima tropical. A região caracteriza-se por vegetação litorânea e mata atlântica com  
27 clima sub-úmido. De um rebanho de 90 bovinos, dois animais apresentaram lesões cutâneas.  
28 Os animais pastejavam em áreas de baixios que constituía a única fonte de forragem disponível  
29 e adjacente havia um canal que drenava água durante todo ano (Fig. 1). Foi informado também  
30 que no período chuvoso essas áreas ficavam alagadas. A doença foi diagnosticada no mês de  
31 janeiro de 2014 e foi relatado pelo proprietário que em anos anteriores outros bovinos  
32 apresentaram lesões cutâneas semelhantes que recuperaram-se espontaneamente.

33 O terceiro caso ocorreu no mês de outubro de 2014, no município de Lavras da Mangabeira,  
34 na mesorregião do Centro-Sul Cearense, com clima semiárido. O animal afetado pertencia a



1 um rebanho de 33 bovinos e 9 equinos. Esses animais eram criados extensivamente em área de  
2 pasto nativo (caatinga) e tinham acessos a uma área adjacente a açude onde a vegetação se  
3 mantinha verde durante todo o ano.

4

### 5 **Sinais clínicos e patologia**

6 As lesões cutâneas apresentaram características diferentes quanto à localização, forma de  
7 apresentação e evolução clínica.

8 No Bovino 1, foram observados nódulos multifocais nas regiões cervical, tibial,  
9 metacarpiana e glútea (Fig. 2A). Alguns desses nódulos apresentavam superfície ulcerada,  
10 irregular, avermelhada e com os bordos elevados (Fig. 2B). Outros estavam recobertos por pele  
11 íntegra com tratos fistulosos deprimidos e alopecicos (Fig. 2C). Nas biópsias, ao corte,  
12 verificaram-se áreas amareladas e avermelhadas irregulares, delimitadas por tecido  
13 esbranquiçado, liso e brilhante na pele, tecido subcutâneo (Fig. 2D) e as vezes na musculatura  
14 adjacente. Além das lesões cutâneas foi verificado que os linfonodos cervicais superficiais e  
15 pré-crurais estavam aumentados de volume e ao corte exibiam áreas nodulares amareladas  
16 multifocais a coalescentes entremeadas por áreas avermelhadas discretas (Fig. 2E).

17 Nos Bovinos 2 e 3, as lesões eram caracterizadas por áreas ulceradas, com bordos  
18 irregulares discretamente elevados e centro levemente deprimido, úmido e avermelhado. Essas  
19 lesões mediam entre 8-15 cm de diâmetro e no Bovino 2 estavam localizadas na região  
20 metacarpiana e no Bovino 3, na região do úmero e da tibia. No Bovino 3, observou-se também  
21 área ulcerada e ressequida com bordas delimitadas por halo escuro (Fig. 3A). Na superfície de  
22 corte, essas lesões ficaram restritas a pele e caracterizavam-se por tecido esbranquiçado, firme,  
23 com áreas multifocais a coalescentes discretas, amareladas, variando de 0,5 a 1,0 cm de  
24 diâmetro (Fig. 3B).

25 Em todos os casos não foram prescritos medidas de tratamento, mas verificou-se regressão  
26 espontânea das lesões em um período que variou 7 meses no Bovino 1, um mês no Bovino 2 e  
27 dois meses no Bovino 3.

28 As lesões microscópicas observadas em todos os casos foram semelhantes, variando apenas  
29 na intensidade da resposta celular ou tecidual e caracterizaram-se por dermatite  
30 piogranulomatosa ulcerativa associada a imagens negativas de hifas. No Bovino 1, observou-  
31 se resposta inflamatória celular acentuada (Fig. 4A) que estendia-se da derme superficial  
32 infiltravam a derme profunda, o subcutâneo e a musculatura adjacente (Fig. 4B) que por vezes  
33 estava necrótica. Essa resposta inflamatória caracterizou-se por presença marcada de células  
34 gigantes multinucleadas, macrófagos epitelioides, linfócitos e plasmócitos, além de neutrófilos

1 e eosinófilos associados a proliferação de tecido conjuntivo disperso (Fig. 4A). Em meio à  
2 inflamação havia áreas multifocais de hemorragia e mineralização. Lesão semelhante foi  
3 observada nos linfonodos onde observou-se substituição da região cortical e medular por  
4 piogranulomas com imagens negativas de hifas, caracterizando metástases (Fig. 4C).

5 Nos Bovinos 2 e 3, observou-se intensa resposta tecidual e discreta resposta inflamatória  
6 celular (Fig. 4D). A lesão foi observada principalmente na derme superficial e caracterizaram-  
7 se por piogranulomas multifocais a coalescentes discretos, delimitados por tecido de  
8 granulação. Esses piogranulomas eram constituídos por áreas centrais contendo discretos  
9 neutrófilos e eosinófilos degenerados, circundados por macrófagos, macrófagos epitelioides e  
10 células gigantes multinucleadas, perifericamente delimitado por tecido conjuntivo fibroso.  
11 Menos frequentemente observou-se granulomas conspícuos, formados por macrófagos  
12 epitelioides e poucas células gigantes multinucleadas.

13 Em todos os casos, hifas em cortes transversais e longitudinais foram observadas no interior  
14 de alguns piogranulomas e no citoplasma de células gigantes (Fig. 4A e D), às vezes  
15 circundadas por material eosinofílico radiado, formando *Splendori-Hoepli*. Nas secções  
16 impregnadas pela GMS foram observadas hifas com diâmetro variando de 2 a 28 µm, paredes  
17 espessas e paralelas, com ramificações irregulares e raras septações (Fig. 4E). Essas hifas não  
18 foram coradas pelo PAS e através da IHQ obteve-se forte imunomarcação para *P. insidiosum*  
19 (Fig. 4F).

## 20 21 **DISCUSSÃO**

22 O diagnóstico de pitiose foi realizado com base nos aspectos epidemiológicos, clínicos e  
23 patológicos, associados às características morfotintoriais do agente e confirmado sua etiologia  
24 pela IHQ.

25 Embora todos os casos de pitiose descritos nesse trabalho tenham ocorrido na região  
26 Nordeste do Brasil, observaram-se características epidemiológicas diferentes de acordo com o  
27 local de ocorrência da doença. Dois casos ocorreram em regiões de clima semiárido, entre os  
28 meses de outubro e novembro, onde a doença tem sido diagnosticada em outras espécies de  
29 animais, atribuída a condições ambientais favoráveis e a escassez de forragens. O hábito  
30 regional de manter reservas de águas, sob a forma de açudes e barragens, as quais os animais  
31 têm acesso, principalmente em época de estiagem onde a pastagem ao redor desses açudes se  
32 mantém verde por mais tempo, contribuem para que os animais permaneçam por longos  
33 períodos nesses locais, que são fontes potenciais de infecção para os animais (Tabosa et al. 2004,  
34 Pessoa et al. 2012, Pessoa et al. 2014).

1 A doença também foi diagnosticada em região de clima tropical litorâneo úmido do  
2 Nordeste brasileiro, em uma área de baixio permeada por um canal que corre água o ano inteiro,  
3 com alagamentos em épocas de chuvas. Essas condições ambientais diferem do que  
4 normalmente é observado na região Nordeste e se assemelha ao que tem sido descrito em outras  
5 regiões do Brasil (Gabriel et al. 2008, Grecco et al. 2009). Recentemente, foram descritos dois  
6 surtos de pitiose bovina nas regiões Oeste e Sul do Rio Grande do Sul, afetando,  
7 respectivamente, 76 e 16 bovinos, que foram colocados em pastagens alagadas durante o verão  
8 (Gabriel et al. 2008, Grecco et al. 2009). Na região Oeste desse estado, o alagamento das  
9 pastagens foi atribuído a canais de irrigação (Gabriel et al. 2008), enquanto que, na Região Sul,  
10 onde a pitiose equina é endêmica, foi associada a campos baixos e planos sujeitos a alagamentos  
11 frequentes durante a estação chuvosa (Grecco et al. 2009). No Pantanal brasileiro, a maioria  
12 dos casos de pitiose ocorre em verões chuvosos (fevereiro–maio) que correspondem ao período  
13 das cheias. O pastejo de animais em solos inundáveis com drenagem lenta associados a  
14 vegetação aquática abundante e altas temperaturas contribuem para ocorrência da doença nessa  
15 região (Santos et al. 2011). Acredita-se também que no segundo caso, o pastejo dos bovinos ao  
16 redor e no interior desses canais, facilitou o contato com água de temperaturas elevadas,  
17 contribuindo para a ocorrência da doença. É importante ressaltar que essas condições  
18 epidemiológicas, não tinham sido relatadas na região Nordeste, uma vez que, todos os casos de  
19 pitiose descritos em equinos (Tabosa et al. 1999), ovinos (Tabosa et al. 2004, Portela et al. 2010,  
20 Pessoa et al. 2012), caprino (Do Carmo et al. 2015) e asinino (Maia et al. 2016), ocorreram na  
21 região semiárida.

22 Em dois bovinos, as lesões macroscópicas foram semelhantes às descritas em bovinos  
23 (Santurio et al. 1998, Gabriel et al. 2008, Grecco et al. 2009, Santos et al. 2011). Essas lesões  
24 corresponderam microscopicamente a resposta tecidual intensa com presença marcada de  
25 fibroplasia, neovascularização e raras hifas, e nesses animais o curso clínico da doença foi curto  
26 com cura espontânea das lesões. No entanto, chamou a atenção a característica da lesão  
27 observada no Bovino 1, que macroscopicamente eram nodulares e as vezes infiltravam o  
28 subcutâneo e a musculatura adjacente, além de envolvimento de linfonodos regionais,  
29 caracterizando metástase. Além do aspecto nodular, observou-se que o curso clínico da doença  
30 nesse animal foi mais prolongado, comparado aos demais animais desse trabalho, bem como  
31 de outros relatos da literatura (Santurio et al. 1998, Gabriel et al. 2008, Grecco et al. 2009,  
32 Santos et al. 2011). Acredita-se que a diferença na lesão microscópica caracterizada por intensa  
33 resposta inflamatória com presença marcada de células gigantes e hifas e pouca resposta  
34 tecidual, associadas ao caráter infiltrativo da lesão e ao curso clínico mais prolongado possam

1 ter contribuído para a envolvimento de linfonodos regionais, observados apenas nesse animal,  
2 sugerindo, aparentemente uma resposta individual. O modo como um tipo de resposta se  
3 sobrepõe e domina a outra *in vivo* é extremamente complexo e determinado por diversos fatores,  
4 que incluem o tipo de célula apresentadora de antígeno (*antigen presenting cell*, APC) (célula  
5 dendrítica versus macrófago e versus linfócito); a citocina envolvida no momento da  
6 apresentação do antígeno, a qual pode ser influenciada pela natureza do patógeno ou do  
7 antígeno; a regulação das células T diferenciadas por citocinas; a dose e afinidade do antígeno  
8 pelo receptor da célula T, o momento e o nível de sinais co-estimulatórios expressados tanto da  
9 APC para a célula T quanto da célula T para a APC durante as respostas primária e secundária  
10 e a cessação das respostas T e B específicas através da morte celular induzida por ativação  
11 (Brown et al. 1998, Martins 2010). Esse conjunto de fatores provavelmente norteia os diferentes  
12 tipos de resposta inflamatória observados entre uma mesma espécie e entre espécies diferentes.

13 Disseminação de *P. insidiosum* para outros órgãos tem sido relatada, no entanto, são  
14 consideradas raras, e podem ocorrer por via hematogena, extensão direta das lesões e por via  
15 linfática (Gaastra et al. 2010). Acredita-se que a metástase em linfonodo observada em apenas  
16 um bovino, tenha ocorrido por via linfática, uma vez que, apenas os linfonodos superficiais  
17 responsáveis pela drenagem da lesão cutânea foram afetados. Metástases para linfonodos  
18 regionais já foram descritos em ovinos (Tabosa et al. 2004) e equinos (Miller & Campbell et al.  
19 1984, Chaffin et al. 1995, Martins 2010), mas até o momento não havia sido observada em  
20 bovinos.

21 Pitiose em bovinos é considerada uma doença pouco frequente. No entanto, em estudos  
22 que descreveram a doença em bovinos no Brasil, os autores relatam a observação por parte dos  
23 produtores, da ocorrência de animais com doença semelhante em anos anteriores e propriedades  
24 vizinhas (Pérez et al. 2005, Gabriel et al. 2008, Grecco et al. 2009, Santos et al. 2011). Nesse  
25 trabalho, esse fato também foi relatado em duas das fazendas visitadas, sugerindo que assim  
26 como na região Sul e Pantanal Matogrossense, na região Nordeste, a pitiose em bovinos ocorra  
27 com mais frequência, mas não seja diagnosticada. Isso possivelmente está associado a diversos  
28 fatores, como a regressão espontânea das lesões, curso clínico pouco prolongado (quando  
29 comparado aos equinos), lesões pouco invasivas, ausência de comprometimento sistêmico,  
30 conhecimento dos proprietários sobre a pitiose e conseqüentemente sem o serviço de Médicos  
31 Veterinário para a confirmação da doença.

32  
33  
34

## CONCLUSÃO

Pitiose em bovinos ocorre em região de clima semiárido e tropical litorâneo do Nordeste do Brasil, devendo ser incluída no diagnóstico diferencial das doenças infecciosas crônicas e neoplásicas que afetam a pele de bovinos. A doença pode se apresentar como lesão cutânea ulcerativa e plana, mas também nodular com caráter prolongado e nesses casos além da pele os linfonodos podem ser afetados.

**Agradecimentos** - Ao CNPq pelo financiamento do Projeto - Edital Universal (Processo nº 474602/2012-5) e Bolsa de Produtividade (Processo nº 302082/2014-0).

## REFERÊNCIAS

- Cardona J.A., Vargas M. & Perdomo S.C. 2012. Frecuencia de presentación de Pythiosis cutânea bovina (*Pythium insidiosum*) en tres explotaciones ganaderas de Córdoba, Colombia. Rev. CES. Med. Vet. Zootec. 7 (2):47- 54.
- Chaffin M.K., Schumacher J. & McMullan W.C. 1995. Cutaneous pythiosis in the horse. Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract. 11(1):91-103.
- Do Carmo P.M., Portela R.A., Silva T.R., Oliveira-Filho J.C. & Riet-Correa F. 2015. Cutaneous pythiosis in a goat. J. Comp. Pathol. 152(2-3):103-105.
- Gaastra W., Lipman L.J.A., De Cock A.W.A.M., Exel T.K., Pegge R.B.G., Scheurwater J., Vilela R. & Mendoza L. 2010. *Pythium insidiosum*: An overview. Vet. Microbiol. 146(1-2):1-16.
- Gabriel A.L., Kommers G.D., Trost M.E., Barros C.S.L., Pereira D.B., Schwendler S.E. & Santurio J.M. 2008. Surto de pitiose cutânea em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 28(12):583-587.
- Grecco F.B., Schild A.L., Quevedo P., Assis-Brasil N.D., Kommers G.D., Marcolongo-Pereira C. & Soares M.P. 2009. Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 29(11):938-942.
- Martins T.B. Morfologia comparada da pitiose em cavalos, cães e bovinos. 2010. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 104p.
- Martins T.B., Kommers G.D., Trost M.E., Inkelmann M.A., Fighera R.A. & Schild A.L. 2012. A comparative study of the histopathology and immunohistochemistry of pythiosis in horses, dogs and cattle. J Comp. Pathol. 146(2-3):122-131.

1 Miller R.I. & Campbell R.S.F. 1984. The comparative pathology of equine cutaneous  
2 phycomycosis. *Vet. Pathol.* 21(3):325-332

3 Miller R.I., Olcott B.M. & Archer M. 1985. Cutaneous pythiosis in beef calves. *J. Am. Vet.*  
4 *Med. Assoc.* 186(9):984-986.

5 Maia L.A., Olinda R.G., Araújo T.F., Firmino P.R., Nakazato L., Miranda E. G. N., Riet-Correa  
6 F. & Dantas A.F.M. 2016. Cutaneous pythiosis in a donkey (*Equus asinus*) in Brazil. *J Vet.*  
7 *Diagn. Invest.* 28(4):436-439.

8 Pérez R.C., Luis-Leon J.J., Vivas J.L. & Mendonza L. 2005. Epizootic cutaneous pythiosis in  
9 beef calves. *Vet. Microbiol.* 109:121-128.

10 Pessoa C.R.M., Riet-Correa F., Pimentel L.A., Garino Jr F., Dantas A.F.M., Kommers G.D.,  
11 Tabosa I.M. & Reis-Júnior J.L. 2012. Pythiosis of the digestive tract in sheep. *J. Vet. Diagn.*  
12 *Invest.* 24(6):1133-1136.

13 Pessoa A.F.A., Pessoa C.R.M., Miranda Neto E.G., Dantas A.F.M. & Riet-Correa F. 2014.  
14 Doenças de pele em equídeos no semiárido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* 34(8):743-748.

15 Portela R.A., Riet-Correa F., Garino-Junior F., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Silva S.M.S.  
16 2010. Doenças da cavidade nasal em ruminantes no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 30(10):844-854.

17 Santos C.E.P. dos, Santurio J.M. & Marques L.C. 2011. Pitiose em animais de produção no  
18 Pantanal Matogrossense. *Pesq. Vet. Bras.* 31(12):1083-1089.

19 Santurio J.M., Monteiro A.B., Leal A.T., Kommers G.D., de Sousa R.S. & Catto J.B. 1998.  
20 Cutaneous pythiosis insidiosi in calves from the Pantanal region of Brazil. *Mycopathol.*  
21 141(3):123-125.

22 Santurio J.M., Alves S.H., Pereira D.B. & Argenta J.S. 2006. Pitiose: uma micose emergente.  
23 *Acta Sci. Vet.* 34(1):1-14.

24 Tabosa I.M., Medeiros V.T., Dantas A.F.M., Azevedo E.O. & Maia J.C. 1999. Pitiose cutânea  
25 em equinos no semi-árido da Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51(1):27-30.

26 Tabosa I.M., Riet-Correa F., Nobre V.M.T., Azevedo E.O., Reis-Junior J.L. & Medeiros  
27 R.M.T. 2004. Outbreaks of Pythiosis in Two Flocks of Sheep in Northeastern Brazil. *Vet.*  
28 *Pathol.* 41(4):412-415.

29  
30  
31  
32  
33  
34

## Legendas das figuras

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

Fig. 1 - Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Observam-se bovinos pastejando em áreas de baixio próximo a canal de irrigação. Adjacente verifica-se vegetação litorânea e mata atlântica. Japarutuba, Sergipe.

Fig. 2 - Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Bovino 1. A) Pele. Observam-se nódulos multifocais nas regiões cervical, tibial, metacarpiana e no glúteo. B) Pele. Verifica-se nódulo de superfície ulcerada na região glútea. C) Pele. Observam-se nódulos recobertos por pele íntegra e tratos fistulosos deprimidos e alopecicos na região da tibia e metacarpo. D) Pele. Observa-se na superfície de corte, áreas amareladas e avermelhadas irregulares, delimitadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante se estendendo ao tecido subcutâneo. E) Linfonodo cervical superficial. Observa-se na superfície de corte, áreas nodulares amareladas multifocais a coalescentes entremeadas por áreas avermelhadas discretas nas regiões cortical e medular.

Fig. 3 - Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. Bovino 3. A) Pele. Observa-se na região do úmero área ulcerada de superfície avermelhada ressequida e bordas delimitadas por halo escuro. B) Pele. Observa-se na superfície de corte, tecido esbranquiçado, liso e brilhante, com áreas multifocais discretamente amareladas.

Fig. 4 - Pitiose em bovinos na região Nordeste do Brasil. A) Pele. Observa-se piogranulomas com múltiplas células gigantes multinucleadas, algumas com imagens negativas de hifas no citoplasma (setas). HE. B) Músculo esquelético. Observam-se piogranulomas infiltrando fibras muscular. C) Linfonodo. Verificam-se piogranulomas na região cortical. HE. D) Pele. Imagem negativa de hifa (seta) circundada por *Splendori-Hoepli* no centro de piogranuloma. HE. E) Hifa impregnada em preto, formando ângulo reto. GMS. F) Observam-se hifas no citoplasma de células gigantes imunomarcadas em vermelho para *Pythium insidiosum*.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7

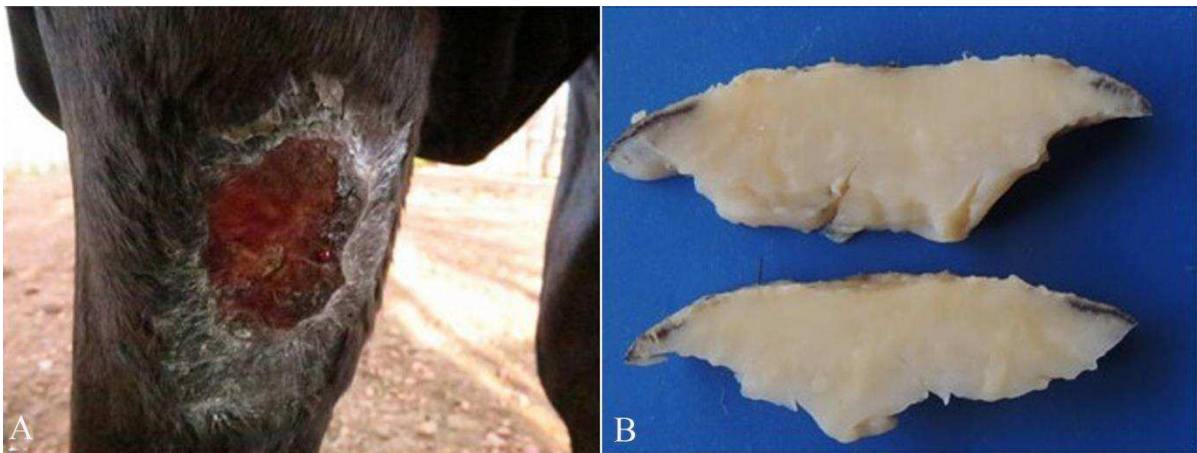
**Figura 1**





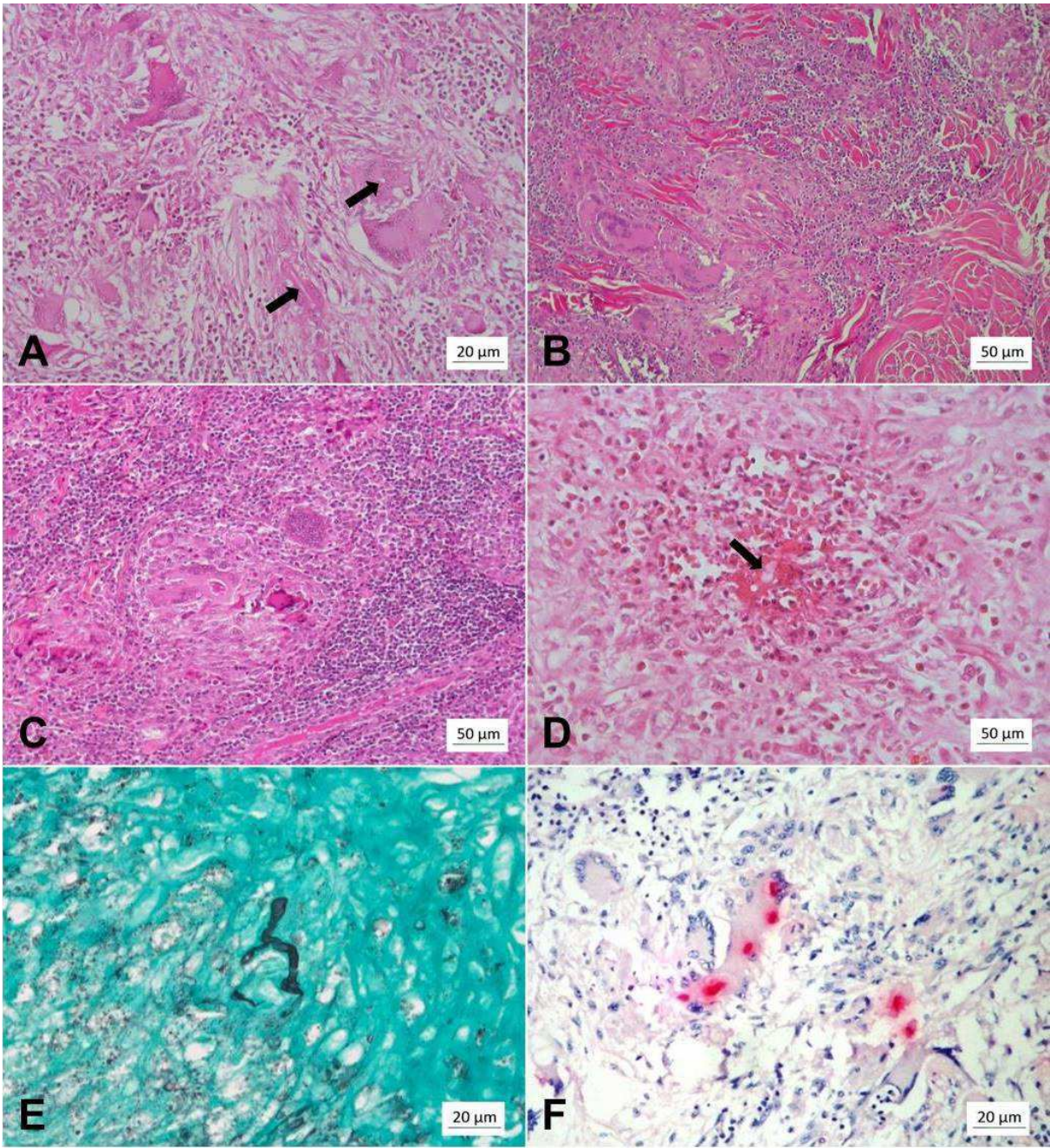
1  
2  
3  
4  
5  
6

**Figura 2**



7  
8  
9  
10

**Figura 3**



1  
2  
3 **Figura 4**  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

### **CAPÍTULO III**

#### **PITIOSE CUTÂNEA EM ASININO (*EQUUS ASINUS*) NO BRASIL**

O presente trabalho foi publicado no periódico *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2016, Vol. 28(4), 436-439 (*Brief Communication*).

DOI: 10.1177/1040638716651467 (anexo 2).

## Pitiose cutânea em asinino (*Equus asinus*) no Brasil

Lisanka A. Maia<sup>1</sup>, Robério G. Olinda<sup>1</sup>, Tenório F. de Araújo<sup>3</sup>, Paulo R Firmino<sup>1</sup>, Luciano Nakazato<sup>2</sup>, Eldinê G. de M. Neto<sup>1</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>1</sup>, Antônio F. M. Dantas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos, PB, 58700-00, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Microbiologia Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, MT, 78069-900, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 59037170, Brasil.

**Resumo:** Descrevem-se os aspectos epidemiológicos, clínicos, patológicos, imuno-histoquímicos e moleculares (PCR) de um caso de pitiose cutânea em asinino (*Equus asinus*) no Brasil. Durante um período seco, o animal pastejou por 4 meses em torno de um açude onde a vegetação permanecia verde. As lesões cutâneas eram nodulares, multifocais e disseminadas, envolvendo principalmente os membros, região ventral do peito e glândula mamária. Na superfície de corte, verificou-se discretos nódulos amarelados, multifocais a coalescentes e ocasionalmente pequenas cavitações com discretos *kunkers*. Microscopicamente observou-se dermatite piogranulomatosa e eosinofílica, ulcerativa e nodular, com foliculite e furunculose. As hifas foram impregnadas em preto pela coloração de metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS). A imuno-histoquímica com anticorpos de *Pythium insidiosum* revelou forte imunomarcagem das hifas em marrom. Do material em parafina foi extraído o DNA de *Pythium insidiosum* pela amplificação de um fragmento de 105 pares de base, que tem como alvo o gene 5.8S ribossomal. Após o diagnóstico de pitiose, foi realizada excisão cirúrgica das maiores lesões cutâneas, tratadas como feridas de segunda intenção, que estavam completamente cicatrizadas no trigésimo dia pós-operatório. As lesões cutâneas pequenas regrediram espontaneamente em aproximadamente 60 dias. A inflamação granulomatosa resultante da doença nesse asinino foi semelhante aos casos de pitioses em bovinos.

**Palavras-chave:** Dermatite, doenças de asininos, foliculite, piogranuloma, *Pythium insidiosum*.

1 Pitiose é uma doença granulomatosa, causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum*, que  
2 acomete diferentes espécies de animais domésticos e silvestres e inclusive o homem, em várias  
3 regiões do mundo (Gaastra, 2010; Santurio et al., 2006). A forma clínica da doença pode variar  
4 de acordo a espécie afetada. Em animais, a infecção pode se desenvolver sob a forma cutânea  
5 ou subcutânea, gastrointestinal, nasal, pulmonar e óssea (Gaastra, 2010). A forma cutânea é  
6 considerada a mais comum e tem sido relatada frequentemente em equinos. A principal  
7 característica da lesão nessa espécie é a presença de galerias ramificadas, preenchidas por  
8 material necrótico branco-amarelado, firme e granular, visto na superfície de corte dos tecidos  
9 afetados e conhecidos como *kunkers* (Gaastra, 2010; Santurio et al., 2006). Casos esporádicos  
10 com envolvimento cutâneo/subcutâneo e ausência de *kunkers* também foram descritos em  
11 bovinos (Martins et al., 2011; Grecco et al., 2009; Santurio et al., 1998), ovinos (Tabosa et al.,  
12 2004), cães (Grooters et al., 2003), gatos (Grooters et al., 2003), dromedário (Wellehan et al.,  
13 2004) e ave (Pesavento et al., 2008). Em asininos, pitiose foi recentemente relatada na  
14 Colômbia, causando lesões cutâneas semelhantes aos equinos (Álvarez et al., 2013).

15 No Brasil, atualmente há relatos de pitiose afetando equinos (Pessoa et al., 2014; Martins  
16 et al., 2011; Santos et al., 2011; Santurio et al., 2006), bovinos (Martins et al., 2011; Grecco et  
17 al., 2009), ovinos (Pessoa et al., 2012; Tabosa et al., 2004), cães (Galiza et al., 2014) e gatos  
18 (Galiza et al., 2014). O objetivo deste trabalho é relatar um caso de pitiose cutânea em asinino  
19 na região semiárida do Brasil, caracterizando os aspectos epidemiológicos, clínicos,  
20 patológicos, imuno-histoquímicos e moleculares.

21 A doença ocorreu em um asinino, fêmea, adulto, sem raça definida, prenhe, que foi  
22 atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande em julho de  
23 2014, apresentando múltiplos nódulos na pele, que evoluíram para áreas ulceradas que  
24 drenavam secreção, com aproximadamente 30 dias de evolução. Esse asinino era criado com  
25 mais outros 15 asininos e três equinos em uma área de pasto nativo (caatinga) em uma  
26 propriedade localizada no município de Jucurutu, Rio Grande do Norte. Apenas esse asinino  
27 pastejava ao redor de um açude onde a vegetação manteve-se verde. Foi informado ainda que  
28 era comum observar o animal pastejando dentro do açude, o qual continha abundante  
29 vegetação aquática na superfície. A doença não foi observada nos outros equídeos.

30 No exame clínico observaram-se múltiplas lesões cutâneas nodulares, arredondadas e  
31 firmes que variaram de 1 a 11 cm de diâmetro, algumas com superfície ulcerada e outras  
32 alopecicas, distribuídas na região ventral do peito, região abdominal, membros torácicos,  
33 membros pélvicos e glândula mamária. As lesões maiores geralmente apresentavam superfície  
34 ulcerada e drenavam secreção serosanguinolenta (Fig. 1A). Foi realizada biópsia de lesões no

1 peito e membros para exame histopatológico. Macroscopicamente observou-se na superfície  
2 de corte desses fragmentos discretos nódulos amarelados multifocais a coalescentes medindo  
3 de 0,2 a 0,4 cm de diâmetro, circundados por tecido esbranquiçado, liso e brilhante. Menos  
4 frequentemente, adjacente aos nódulos foram vistas pequenas cavitações contendo material  
5 necrótico, levemente friável, amarelado e granular que se desprendiam facilmente (*kunkers*)  
6 (Fig. 1B).

7 As lesões microscópicas caracterizaram-se por dermatite nodular e ulcerativa  
8 eosinofílica e piogranulomatosa com foliculite e furunculose. Na derme superficial e profunda  
9 observaram-se piogranulomas, multifocais a coalescentes, com áreas centrais de necrose  
10 eosinofílica circundada por eosinófilos, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes  
11 multinucleadas (Fig. 1C). Os granulomas eram envoltos por tecido fibroso e frequentemente  
12 entremeados por eosinófilos, linfócitos e plasmócitos. Imagens negativas de hifas, em secções  
13 transversais e longitudinais, ocasionalmente circundadas por pequena reação de Splendore-  
14 Hoeppli, foram observadas nas áreas centrais de necrose. Essas áreas de necrose estavam  
15 ausentes em alguns granulomas. Na luz de alguns folículos pilosos verificou-se necrose  
16 eosinofílica associada a restos de pelos e imagens negativas de hifas. Alguns folículos pilosos  
17 apresentavam ruptura e parcial substituição por grandes áreas de necrose, com infiltrado de  
18 eosinófilos e imagens negativas de hifas. Observaram-se também macrófagos, linfócitos e  
19 eosinófilos infiltrando a parede de alguns folículos, causando foliculite mural e discreta  
20 furunculose (Fig. 1C). Nas secções impregnadas pela metenamina nitrato de prata de Gomori  
21 (GMS) foram observadas hifas com paredes paralelas e espessas, com ramificações irregulares  
22 e raras septações. O diâmetro das hifas variou de 2-28  $\mu\text{m}$  e foi obtido através de um  
23 microscópio Axio Scope A1, câmera digital Axio Cam MRc5, controlada pelo programa Zen  
24 2012.

25 Para confirmação do agente etiológico realizou-se imuno-histoquímica utilizando  
26 anticorpo policlonal anti- *P.insidiosum* na diluição de 1:800, complexo estreptavidina-  
27 peroxidase e o cromógeno 3,3 diaminobenzidine (DAB). Como controle positivo, foram  
28 utilizadas secções histológicas de caso confirmado de pitiose em equino e como controle  
29 negativo, as mesmas secções foram utilizadas, com substituição do anticorpo primário por  
30 PBST. Através dessa técnica obteve-se forte imunomarcagem das hifas em marron (Fig. 1D),  
31 confirmando o diagnóstico de pitiose. A extração de DNA foi feita utilizando amostras  
32 teciduais fixadas em parafina, submetidas ao aquecimento em tampão de pH alcalino, extração  
33 com fenol-clorofórmio, precipitação com etanol e ressuspensão em água ultrapura; como  
34 previamente descrito por Shi et al. (2004). Os *primers* utilizados na reação de PCR foram P11

1 (5'-TTCGTCGAAGCGGACTGCT-3') e PI2 (5'-GCCGTACAACCCGAGAGTCATA-3')  
2 que amplificaram um fragmento de 105 pares de base (pb) para a primeira região ribossomal  
3 (ITS1) de *P. insidiosum*. Foram utilizadas como controle positivo amostras teciduais, fixadas  
4 em parafina, de um caso confirmado de pitiose. Como controle negativo, foi utilizada água  
5 ultrapura. As amostras desse asinino e dos controles positivos foram positivas no PCR.

6 Foi realizada excisão cirúrgica das lesões cutâneas maiores e tratamento com aplicação  
7 tópica de clorexidina e repelente. Os menores nódulos não foram cirurgicamente removidos.  
8 A cicatrização das feridas cirúrgicas foi observada 30 dias após o procedimento e os nódulos  
9 menores, não tratados, regrediram após 60 dias.

10 O diagnóstico de pitiose foi estabelecido com base nos achados epidemiológicos,  
11 clínicos e patológicos, e foi confirmado por imuno-histoquímica e Reação em Cadeia da  
12 Polimerase (PCR). As lesões cutâneas macroscópicas observadas neste asinino foram  
13 semelhantes ao que tem sido descrito em ruminantes. Na superfície de corte de alguns nódulos  
14 havia pequenas cavitações preenchidas por *kunkers*. Os *kunkers* são considerados  
15 patognomônicos da pitiose em equinos e foram relatados também em asininos que  
16 apresentavam lesões cutâneas (Álvares et al., 2015) e em camelo com envolvimento vulvar  
17 (Videla et al., 2012). No asinino desse estudo, a presença de pequenos *kunkers* associados a  
18 imagens negativas de hifas intralesionais permitiram o diagnóstico presuntivo de pitiose. No  
19 entanto, os *kunkers* não foram o achado predominante nas lesões, em contraste aos outros casos  
20 em equinos (Mendoza et al., 1996) e asininos (Álvares et al., 2015).

21 Microscopicamente, observou-se predomínio de reação inflamatória granulomatosa  
22 e/ou piogranulomatosa com discretas áreas de necrose eosinofílica central. Lesões  
23 granulomatosas semelhantes têm sido descritas em bovinos e considera-se que sejam  
24 responsáveis pela condição autolimitante da pitiose nessa espécie (Gabriel et al., 2008; Santurio  
25 et al., 1998). A remissão dos menores nódulos e a rápida cura pós-tratamento das feridas  
26 cirúrgicas podem ser atribuídas ao tipo de resposta inflamatória granulomatosa observada,  
27 caracterizada por células mononucleadas, macrófagos e células gigantes multinucleadas. Para  
28 o desenvolvimento da inflamação granulomatosa, se faz necessário a predominância de uma  
29 resposta imune celular do tipo Th1, envolvendo linfócitos e citocinas como interleucina-2 e  
30 interferon- $\gamma$ , as quais danificam e destroem as hifas (Santurio et al., 1998). Embora nesse caso  
31 a doença tenha ocorrido de forma branda, em um relato anterior na Colômbia, muitos asininos  
32 apresentaram uma forma mais severa de pitiose com lesões macroscópicas e histológicas  
33 similares as observadas em equinos (Álvares et al., 2015). As diferenças observadas em relação

1 ao quadro clínico no relato prévio podem ser resultantes de diferentes níveis de resistência à  
2 infecção entre asininos ou à diversidade genética do *P. insidiosum*.

3 Tem sido descrito que a infecção ocorre principalmente através do contato direto dos  
4 zoósporos móveis com ferimentos na pele ou membranas mucosas. Os zoósporos são atraídos  
5 por quimiotaxia e penetram através de lesões cutâneas preexistentes (Mendoza et al., 1996).  
6 Embora considerada rara, a possibilidade de penetração do agente pelos folículos pilosos, sem  
7 uma lesão prévia na pele, foi sugerida em descrição da doença em dois bovinos, com base na  
8 observação de hifas nos folículos pilosos (Santurio et al., 1998). Além disso, sob condições de  
9 laboratório, foi observado que zoósporos móveis de *P. insidiosum* foram fortemente atraídos  
10 para os pelos de todas as espécies testadas (equina, bovina, coelho e ratos), particularmente para  
11 a parte do pelo normalmente encontrada dentro do fóliculo piloso (Santurio et al., 1998). Desse  
12 modo, é possível que nesse asinino o agente tenha penetrado a derme através de folículos  
13 pilosos, uma vez que hifas foram vistas no lúmen folicular associadas à foliculite e furunculose  
14 e lesões traumáticas pré-existente não foram relatadas.

15 No semiárido nordestino são considerados como fatores predisponentes da pitiose em  
16 equinos, ovinos e caprinos a manutenção de água em reservatórios para uso durante a estação  
17 seca; alta temperatura da água, que favorece a proliferação da forma infectante do agente; e  
18 escassez de forragens na estação seca, o que leva os animais a intensificar o pastejar ao redor e  
19 dentro de açudes em busca de alimentação (Pessoa et al., 2014). Neste caso, verificou-se que a  
20 doença ocorreu durante um longo período de estiagem (Empresa de Pesquisa Agropecuária do  
21 Rio Grande do Norte [EMPARN]), e com severa escassez de alimentos, contribuindo para a  
22 permanência do animal por longos períodos pastejando dentro e ao redor do açude, que  
23 constituía a única fonte de vegetação verde disponível.

24 Em adição aos fatores ambientais, diferentes padrões de comportamento podem também  
25 influenciar no desenvolvimento da pitiose em diferentes espécies animais (Pessoa et al., 2014;  
26 Santos et al., 1998). Em equinos o hábito de partejar em áreas alagadas é o principal fator de  
27 risco (Santos et al., 1998). Em contraste, asininos, caprinos e bovinos preferem ambientes secos,  
28 evitando a permanência em áreas alagadas (Pessoa et al., 2014). Nos casos de pitiose em  
29 asininos na Colômbia (Álvares et al., 2015), as condições ambientais nas quais a doença ocorreu  
30 não foram mencionadas.

31  
32  
33  
34



1 **Agradecimentos**

2 Ao CNPq pelo financiamento do projeto - Edital Universal (Processo nº 474839/2012-5).

3

4 **Conflitos de interesse**

5 Os autores declaram que não há conflitos de interesses.

6

7

**REFERÊNCIAS**

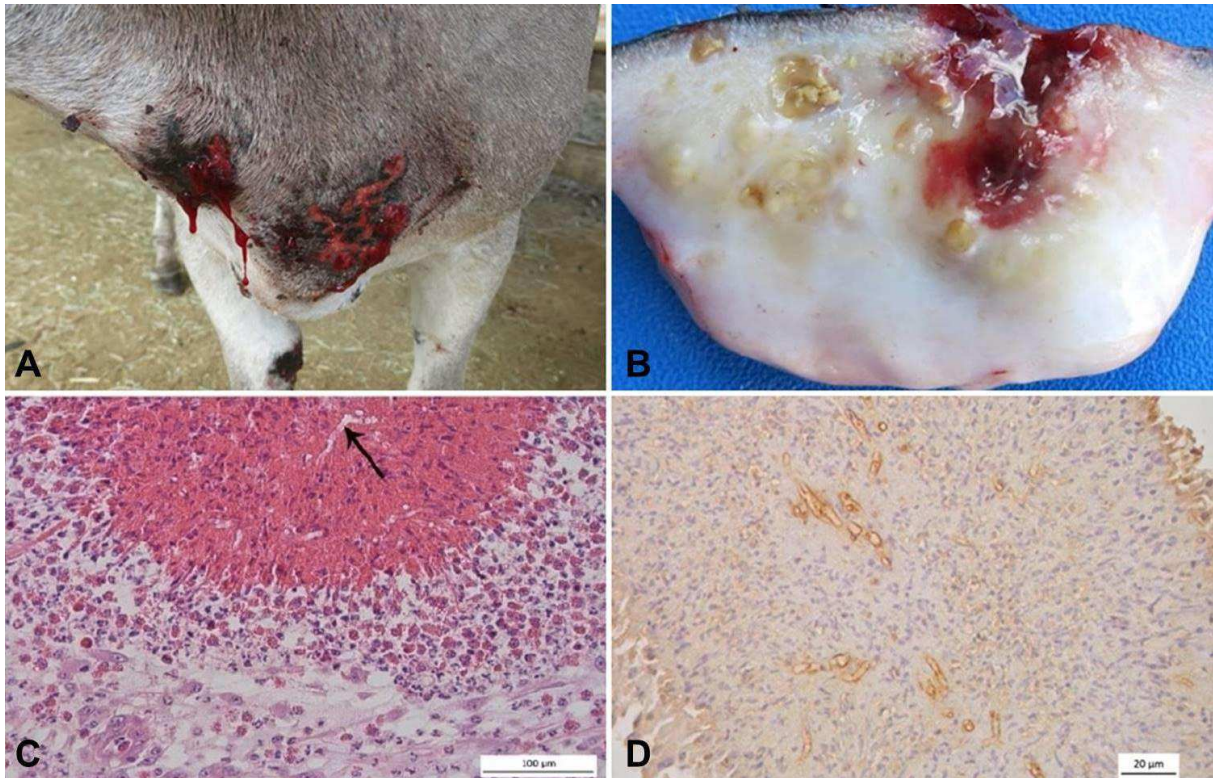
- 8 1. Álvarez JACA, Vilorio MIVV, Ayola SCP. 2013, Evaluacion clínica e histopatológica de la  
9 pitiosis cutânea em burros (*Equus asinus*). Rev Med Vet 25:9-19.
- 10 2. Gaastra W, Lipman LJA, De Cock AWAM, et al.: 2010, *Pythium insidiosum*: An overview.  
11 Vet Microbiol 146:1-16.
- 12 3. Galiza GJN, Silva TM, Caprioli RA, et al.: 2014, Ocorrência de micoses e pitiose em animais  
13 domésticos: 230 casos. Pesq Vet Bras 34(3): 224-232.
- 14 4. Grecco FB, Schild AL, Quevedo P, et al.: 2009, Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do  
15 Rio Grande do Sul. Pesq Vet Bras 29(11): 938-942.
- 16 5. Grooters AM, Hodgins EC, Bauer RW, et al.: 2003, Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis  
17 in small animals. Vet Clin North Am 33(4):695-720.
- 18 6. Martins TB, Kommers G D, Trost ME, et al.: 2011, A comparative study of the histopathology  
19 and immunohistochemistry of pythiosis in horses, dogs and cattle. J. Comp Pathol 146: 122-131.
- 20 7. Pesavento PA, Barr B, Riggs SM, et al.: 2008, Cutaneous pythiosis in a nestling white faced  
21 ibis. Vet Pathol 45: 538-541.
- 22 8. Pessoa CRM, Riet-Correa F, Pimentel LA, et al.: 2012, Pythiosis of the digestive tract in  
23 sheep. J Vet Diagn Invest 24 (6):1133-1136.
- 24 9. Pessoa AFA, Pessoa CRM, Miranda Neto EG, et al.: 2014, Doenças de pele em equídeos no  
25 semiárido brasileiro. Pesq Vet Bras 34 (8):743-748.
- 26 10. Santos CEP, Santurio JN, Marques LC. 2011, Pitiose em animais de produção no Pantanal  
27 Matogrossense. Pesq Vet Bras 31 (12):1083-1089.
- 28 11. Santurio JM, Monteiro AB, Leal AT, et al.: 1998, Cutaneous pythiosis insidiosus in calves  
29 from the Pantanal region of Brazil. Mycopathol 141:123-125.
- 30 12. Santurio JM, Alvez SH, Pereira DB, et al.: 2006, Pitiose: uma micose emergente. Acta Sci  
31 Vet 34 (1): 1-14.
- 32 13. Shi SR, Datar R; Liu C, et al.: 2004, DNA extraction from archival formalin-fixed, paraffin-  
33 embedded tissues: heat-induced retrieval in alkaline solution. Histochem Cell Biol 122:211-  
34 218.

1 14. Tabosa IM, Riet-Correa F, Nobre VMT, et al.: 2004, Outbreaks of Pythiosis in Two Flocks  
2 of Sheep in Northeastern Brazil. *Vet Pathol* 41: 412–415.

3 15. Videla R, Van Amstel S, O’neill SH, Frank LA, et al.: 2012, Vulvar pythiosis in two captive  
4 camels (*Camelus dromedarius*). *Med Mycol* 50: 219-224.

5 16. Wellehan JF, Farina LL, Keoughan CG, et al.: 2004, Pythiosis in a dromedary camel  
6 (*Camelus dromedaruis*). *J Zoo Wildl Med* 35(4): 564-568.

7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31



1  
 2 **Figura 1** - Pitiose em asinino no Brasil. **A)** Observam-se lesões cutâneas nodulares e ulcerativas  
 3 drenando secreção serosanguinolenta na região do peito. **B)** Superfície de corte contendo  
 4 múltiplos *kunkers* e algumas cavitações ou galerias com secreção serosanguinolenta,  
 5 circundadas por tecido esbranquiçado, liso e brilhante. **C)** Verifica-se necrose eosinofílica  
 6 (asterisco) na luz de folículo piloso (cabeça de seta), além de ruptura da parede folicular (seta).  
 7 HE. **D)** Verificam-se múltiplas hifas de *P. insidiosum* fortemente marcadas em marron (setas)  
 8 pelo método de Estreptavidina-biotina peroxidase. Obj. 40x.

9  
 10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15  
 16  
 17  
 18  
 19  
 20

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Hospital Veterinário presta um importante serviço de diagnóstico na região Nordeste do Brasil, permitindo estabelecer a ocorrência de doenças fúngicas em bovinos e pitiose em bovinos e asininos principalmente na Paraíba, mas também em outros estados como Rio Grande do Norte, Ceará e Sergipe, seja através de estudo de levantamento no Laboratório de Patologia Animal ou assistência ao produtor rural com visitas a propriedades rurais.

O conhecimento e a divulgação a comunidade científica e aos produtores rurais, sobre a ocorrência dessas enfermidades auxiliam na realização de mais diagnósticos e no estabelecimento de medidas de controle e prevenção dessas enfermidades, melhorando a expectativa dos animais.

A técnica de imuno-histoquímica associadas a características morfológicas dos agente fúngicos e oomicetos, permitiram melhorias na eficiência do diagnóstico sobre doenças fúngicas e pitiose.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29

**ANEXOS**

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

**NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 2.000,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.**

**1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:**

a) o **Título** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) **sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos**, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;**

c) o **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. **Quadros** (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico

ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

**2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:**

a) A digitação deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. **Essa numeração será contínua por todo o artigo**; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, **sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word**. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores**. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. **Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez**. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada em **caixa alta e baixa**, com os nomes científicos em itálico (grifo), e **sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. **As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto).**

5. **Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos**. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. **Não há traços verticais, nem fundos cinzas**. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.



