

PITIOSE CUTÂNEA EM EQUINOS NO RIO GRANDE DO SUL¹

MURILO NOGUEIRA dos SANTOS², LUCIANO LUIZ METZDORF³, MARCOS MOREIRA BRAGA
e CARLOS ALBERTO WOLLE⁴

ABSTRACT.- Santos M.N., Metzdorf L.L., Braga M.M. & Wolle C.A. 1987. [Cutaneous pythiosis in horses from Rio Grande do Sul, Brazil.] Pitiose cutânea em equínos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(3): 57-61. Depto Patologia, Univ. Fed. Sta Maria, 97119 Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Seventeen cases of Pythiosis in horses from Rio Grande do Sul, Brazil, are described. The lesions consisted of subcutaneous granulomas in the limbs, ventral thoracoabdominal wall and face. Specimens from the lesions were obtained through biopsy or at post-mortem examination. The disease is caused by the *Pythium* sp., and yeast-like Protista organism and the lesions are similar to the cutaneous Habronimiasis. Most cases of Pythiosis were observed in summer and the characteristic lesions consisted of an exuberant chronic inflammatory reaction crisscrossed by numerous irregular channels containing a central yellow and firm necrotic core (kunker). A presumptive diagnosis of Pythiosis was made in H & E preparations based on the findings of linear or round spaces in the necrotic areas which represented ghost images of the organism. Identification of the fungal elements was achieved with the use of silver stains (all cases), direct examination (2 cases) and cultures (2 cases). The morphology of the agent and histopathological lesions in all cases are identical and permit the etiologic diagnosis even in non-cultured lesions.

INDEX TERMS: *Pythium* sp., subcutaneous pythiosis, horses, granulomatous lesions, pathology.

SINOPSE.- Foram diagnosticados 17 casos de pitiose em lesões granulomatosas dos membros, região toracoabdominal ventral e face, obtidas por biópsia e necropsia de equínos do Rio Grande do Sul, Brasil. A doença é causada pelo organismo *Pythium* sp., do reino protista, que provoca lesões semelhantes àquelas da habronemíase cutânea e ocorre, principalmente, nos meses de verão. As lesões caracterizam-se por proliferações inflamatórias exuberantes, com fistulação de onde sai material necrótico amarelado, de consistência firme. O diagnóstico foi feito através da verificação da imagem negativa de elementos filamentosos tubuliformes nas áreas necróticas, vistas nas preparações coradas pela hematoxilina e eosina, pela sua evidenciação nas impregnações pela prata, visualização em exame direto e por cultura do agente de material de dois animais. A semelhança das lesões em todos os casos assegurou o diagnóstico de pitiose.

TERMOS DE INDEXAÇÃO. *Pythium* sp., pitiose equína, cavalo, granuloma cutâneo, patologia.

INTRODUÇÃO

O termo Pitiose foi proposto por Miller (1983a) para denominar as lesões granulomatosas cutâneas dos equínos, causadas pelo organismo filamentosso tubuliforme *Pythium* sp., antes denominado *Hyphomyces destruens*.

¹ Aceito para publicação em 16 de março 1987.

² Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97119 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

³ Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

⁴ Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM.

Os granulomas mais comuns em equínos são aqueles da pele causados por *Pythium*, os originados por larvas e *Habronema* sp. (habronemíase cutânea) e os produzidos pelo fungo *Basidiobolus haptosporus* e, na cavidade nasal, pelo fungo *Conidiobolus coronatus* (Miller & Campbell 1982).

O *Pythium* sp. não é um fungo. É um protista classificado como ficomiceto da família *Pythiaceae* que produz zoosporos biflagelados (Austwick & Coplan 1974, Shipton et al. 1982). Parasita de plantas aquáticas, o fungo infecta equínos no estágio de zoosporo móvel (Miller 1983b, Mendoza & Alfaro 1986), não havendo a necessidade de lesão da pele para que haja a infecção (Hutchins & Johnston 1972).

A doença ocorre em animais de regiões tropicais e subtropicais úmidas nos meses de verão, atacando equínos de todas as idades, sexos ou raças (Austwick & Copland 1974, Miller & Campbell 1982). A lesão é progressiva e ocorre nas porções baixas dos membros e na parede toracoabdominal, caracterizando-se por formações granulomatosas, fistuladas ou ulceradas com massas necróticas cinza-amareladas (Hutchins & Johnston 1972). Descrições de pitiose gastrointestinal em cães foram feitas por Miller et al. (1983) e por Miller (1985). Pitiose cutânea também já foi observada em bovinos (Miller et al. 1985).

No Rio Grande do Sul, Santos & Londero (1974), em um estudo histológico de lesões suspeitas de habronemíase cutânea, verificaram a existência de quatro casos de infecção por *Hyphomyces destruens*, dentre 10 granulomas semelhantes aos causados por *Habronema* sp. em equínos, embora, nos demais casos, não se tenha verificado histologicamente a larva da mosca.

No Mato Grosso, Carvalho et al. (1984) descreveram a ocorrência de uma dermatite nodular e ulcerativa causada por *Hyphomyces destruens* em 13 equídeos da região do pantanal.

Descrevem-se novas ocorrências de pitiose em eqüinos do Rio Grande do Sul, onde se obteve a cultura do organismo causal da doença e se fez um levantamento de todos os casos observados em 22 anos no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

MATERIAL E MÉTODOS

O material deste estudo compreende espécimes de 13 biópsias e de 4 necrópsias de eqüinos, observados no período de 1965 a 1986 no Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

O material de biópsia procedeu de eqüinos de diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul e o de necropsia foi de animais da região central deste estado.

Após a fixação em formol neutro a 10%, o material para exame histológico foi clivado, incluindo em parafina e cortado a 5 micrômetros. As colorações empregadas foram a da Hematoxilina - Eosina e da impregnação pela prata (metenamina-nitrato de prata) para a evidenciação do agente etiológico da lesão.

Para a cultura foram colhidos fragmentos de material necrótico, lavados várias vezes em água destilada e semeados em agar sabouraud dextrose.

De dois animais, fragmentos do mesmo material foram triturados e clarificados com hidróxido de potássio (soda cáustica) a 10%, para exame direto.

RESULTADOS

O maior número de animais atingidos não tinham raça definida (SDR), três eram da raça crioula e um era da raça Puro-Sangue Inglês (PSI). Animais de ambos os sexos foram atingidos igualmente e a idade variou entre oito meses e 20 anos. A evolução da doença variou de dias a meses e sua ocorrência foi, principalmente, nos meses de janeiro a março, com dois casos em maio, dois em junho e um em outubro (Quadro 1 e Fig. 1).

As lesões ocorreram nas partes inferiores dos membros posteriores em 41,2% dos casos (Fig.2); também na região esternal, na face (Fig.3), no pescoço, na vulva, no pênis, no lábio inferior.

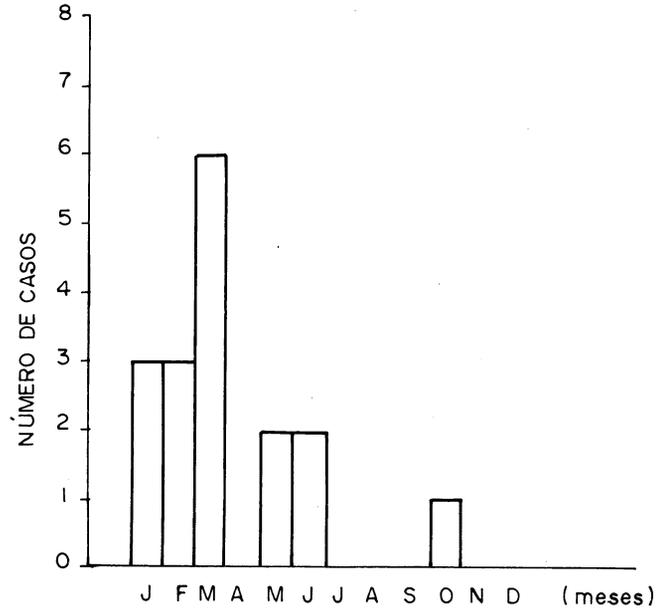


Fig. 1. Incidência da pitiose eqüina no Rio Grande do Sul, de acordo com os meses do ano.

As lesões de mama ou dos membros, eram por vezes associadas à lesão da face e do abdômen. Em apenas dois animais a lesão era no membro anterior, mas em nenhum animal necropsiado se observaram lesões em outros locais ou órgãos (Quadro 1).

Os históricos clínicos relatavam a formação de tumorações exuberantes, associadas à ulceração da pele e fistulação de onde saía material necrótico amarelado, de consistência firme (Fig.4). No material de necropsia verificou-se que essas proliferações teciduais da pele consistiam de tecido fibroso, brancacento e brilhante, entrecortado por galerias cheias de material necrótico,

Quadro 1. Pitiose eqüina no Rio Grande do Sul

Número	Raça	Sexo	Idade (anos)	Mês de ocorrência	Localização das lesões	Evolução (dias)	Tipo de material
1	SRD	M	0	Janeiro	Pescoço	...	Biópsia
2	SRD	F	15	"	Vulva	...	"
3	SRD	M	0	"	Pênis	...	"
4	SRD	M	8	Fevereiro	MPD ^a	20	"
5	Crioula	M	3	"	Esterno	60	"
6	SRD	M	2	"	MPE ^b /gengiva	120	Necropsia
7	SRD	M	10	Março	MP ^c /peito	...	Biópsia
8	SRD	M	5	"	MAE ^d	...	"
9	SRD	M	6	"	MA ^e /esterno	60	"
10	SRD	M	18	"	Lábio inferior	45	"
11	SRD	M	10	"	-	...	"
12	Crioula	F	6	"	Região mandibular	60	Necropsia
13	SRD	F	18	Maio	Próximo a mama	15	Biópsia
14	SRD	F	12	"	MPE	90	Necropsia
15	PSI	F	3	Junho	MP	...	Biópsia
16	Crioula	F	1	"	MPE	...	Necropsia
17	SRD	F	2	Outubro	MP	...	Biópsia

^aMPD = membro posterior direito;

^bMPE = membro posterior esquerdo;

^cMP = membro posterior;

^dMAE = membro anterior esquerdo;

^eMA = membro anterior.



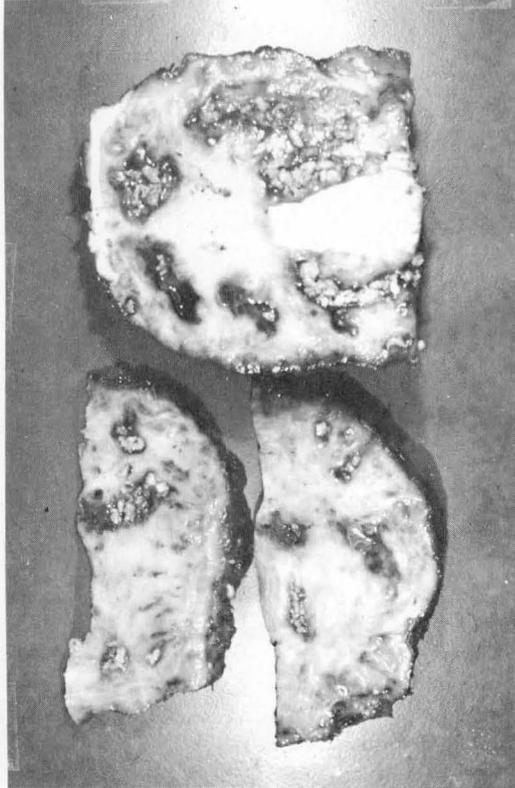
2



3



4



5

Fig. 2. Formação granulomatosa de pitiose do tecido subcutâneo da região tíbia, com inúmeros pontos salientes de fistulação, em equino de 1 ano.

Fig. 4. Grande formação granulomatosa ulcerada de pitiose de evolução de 90 dias, no metatarso com áreas de fistulação donde sai material necrótico (parte inferior), em equino de 12 anos.

Fig. 3. Tumoração ulcerada de pitiose no tecido subcutâneo da região da mandíbula com evolução de 60 dias, em equino de 6 anos.

Fig. 5. Superfície de corte do tecido de granulação na pitiose eqüina, mostrando focos de necrose de aspecto caseoso.



Fig. 6. Elementos filamentosos tubuliformes de *Pythium*, observando-se paredes paralelas e lisas com ramificações laterais, na pitiose eqüina. Metenammina-nitrato de prata. Obj. 40.

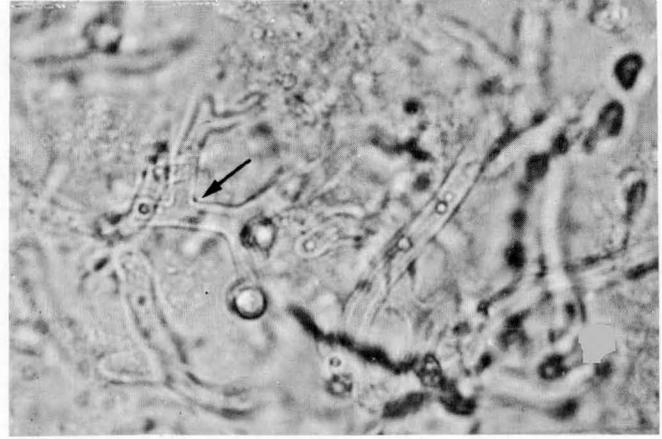


Fig. 7. Emaranhado de elementos filamentosos tubuliformes com ramificações em ângulo reto (seta) na pitiose eqüina. Exame direto do material clarificado. Obj. 40.

firme, rugoso, ramificado e amarelado que podia ser retirado facilmente do local (Fig. 5).

O aspecto histológico das lesões não variou. Os tecidos corados pela hematoxilina e eosina mostravam áreas necróticas eosinofílicas e irregulares, nas margens das quais se observavam fendas de contornos lisos, sinuosas ou não ou pequenos orifícios circulares de limites nítidos que correspondiam a cortes longitudinais ou transversais dos elementos filamentosos. Essas áreas necróticas apareciam circundadas por eosinófilos, neutrófilos e histiócitos em meio a intensa proliferação conjuntiva, às vezes, edematosa e rica em fibroblastos, outras vezes mais rica em fibras colágenas, mas sempre infiltrada por eosinófilos. Em nenhum caso se observou a invasão de vasos.

Nas impregnações pela prata os elementos filamentosos tubuliformes apareciam ramificados, de paredes lisas e paralelas com escasso material protoplasmático e algumas septações (Fig. 6). O organismo localizava-se principalmente nas margens das áreas de necrose.

Em culturas, as colônias cresceram lentamente, eram chatas, cerosas e arborecentes. Microscopicamente eram compostas por elementos filamentosos de 7 micrômetros ou mais em seus diâmetros, não septados, apresentando projeções laterais, simulando ramos arbutivos curtos.

Nas preparações para exame direto verificou-se um emaranhado de elementos de paredes lisas e paralelas com ramificações, tendendo a formar ângulos retos (Fig. 7).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A infecção por organismos do gênero *Pythium* sp. está diretamente ligada ao contacto de eqüinos com águas contaminadas, não havendo, por isso, predisposição de raça, sexo e idade. Considerando que o *Pythium* tem um ciclo evolutivo que envolve plantas aquáticas de banhados, a partir de zoóporos da água pode haver a contaminação de feridas ou então esses colonizam no pêlo dos animais e desenvolvem, mais tarde, lesões na pele danificada (Miller 1983).

Nos casos aqui apresentados todos os materiais de biópsia ou de necropsia eram de animais que viviam em áreas do estado onde existem banhados. Um dos eqüinos estava estabulado. Neste caso existe a possibilidade de contaminação do mesmo quando em contacto com água contaminada e a manifestação da doença se-

manas após, uma hipótese proposta por Miller & Campbell (1982), baseada no período de incubação do agente.

A época de maior ocorrência da doença foi nos meses quentes do ano, (janeiro a março), mas com casos nos meses frios (maio e junho) ou temperados (outubro). Observação de pitiose na Austrália e Estados Unidos também são feitas em épocas de maior calor, pois o agente requer temperatura de 30° - 40°C para a esporulação, mas o aparecimento da doença meses após o verão foi observado por Miller & Campbell (1982) em eqüinos e por Miller (1985) em caninos.

A localização das lesões nas porções baixas dos membros posteriores foi mais freqüente, seguida daquelas da região abdominal ventral e mama e da face. Curiosamente e sem explicação para o fato, os membros anteriores são menos atingidos. Essas localizações de lesões também foram observadas por Bridges & Emmons (1961) e por Miller & Campbell (1982) e as da face ocorrem quando o animal se contamina ao beber a água dos pântanos ou ao coçar as feridas dos membros. Lesões gástricas e intestinais em cães são causadas por ingestão de água contaminada (Miller 1985).

A doença tem uma evolução que varia de dias a meses e a extensão das lesões depende do tempo de evolução. São características das lesões o crescimento exuberante de tecido de granulação com fistulações de onde sai o material necrótico rico em organismos filamentosos tubuliformes, mas a lesão pode ser confundida com aquela causada por Habronema; esta, porém, regride com a chegada do frio, segundo Bridges & Emmons (1961), o que não ocorre na pitiose que leva o animal à morte por extrema debilidade.

Hutchins & Johnston (1972) obtiveram a cura de animais com pitiose através da remoção cirúrgica do processo inflamatório, associada ao uso de iodeto de potássio intravenoso. Em três animais necropsiados, deste relato, o uso desse tratamento não teve sucesso, talvez pela grande extensão das lesões. Imunoterapia foi usada com sucesso no tratamento de casos agudos da doença (Mendoza & Alfaro 1986).

A colheita do material necrótico junto do tecido de granulação é de fundamental importância para o diagnóstico histopatológico e para um diagnóstico rápido, através da digestão por hidróxido de potássio (soda cáustica) onde se observa o emaranhado de elementos filamentosos tubuliformes com ramificações em ângulo reto (Fig. 1), possibilitando assim a diferenciação da habronemíase e uma intervenção terapêutica precoce.

A grande maioria dos casos relatados eram suspeitos de habronemíase cutânea, mas o comportamento clínico-patológico idêntico de todos, comparados aqueles de onde se obteve a cultura do organismo causal ou a sua verificação pelo exame direto e a ausência de larvas de mosca em todos os casos, permitem o diagnóstico seguro de pitiose equina.

Agradecimentos.- Os autores agradecem aos Professores Dr. Alberto T. Londero e Ceci Ramos pelas culturas do organismo *Pythium* e sugestões ao trabalho.

REFERÊNCIAS

- Austwick P.K.C. & Copland J.W. 1974. Swamp cancer. *Nature* 250:84.
- Bridges C.H. & Emmons C.W. 1961. A phycomycosis of horses caused by *Hyphomyces destruens*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 138(11):579-589.
- Carvalho E.C.Q., Rosa C.A.R., Cruz L.C.H. & Scaff R.M. 1984. *Hyphomyces destruens*: Agente da "ferida brava" (hifomicose) em equídeos do pantanal de Mato Grosso. *Anais XIX Congr. Bras. Med. Vet., Cuiabá*, p. 311. (Resumo)
- Hutchins D.R. & Johnston K.G. 1972. Phycomycosis in the horse. *Aust. Vet. J.* 48:369-378.
- Mendoza L. & Alfaro A.A. 1986. Equine pythiosis in Costa Rica: Report of 39 cases. *Mycopathologia* 94:123-129.
- Miller R.I. 1983a. Letter to the editor. Nomenclature of fungal diseases. *Vet. Pathol.* 20:251-253.
- Miller R.I. 1983b. Investigation into the biology of three "phycomycotic" agents pathogenic for horses in Australia. *Mycopathologia* 81:23-28.
- Miller R.I. 1985. Gastrointestinal phycomycosis in 63 dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186(5):473-478.
- Miller R.I. & Campbell R.S.F. 1982. Clinical observations on equine phycomycosis. *Aust. Vet. J.* 58:221-226.
- Miller R.I., Olcott B.M. & Archer M. 1985. Cutaneous pythiosis in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186(9):984-986.
- Miller R.I., Qualls Jr. C.W. & Turnwald G.H. 1983. Gastrointestinal phycomycosis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182(11):1245-1246.
- Santos M.N. & Londero A.T. 1974. Zigomicose subcutânea em cavalos. *Pesq. Agropec. Bras., Série Vet.*, 9:7-8.
- Shipton W.A., Miller R.I. & Lea I.R. 1982. Cell Wall, zoospore and morphological characteristics of australian isolates of a *Pythium* causing equine phycomycosis. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 79(1):15-23.