

PITIOSE

PYTHIOSIS

Alexandre Trindade Leal¹ Adriana Bardemaker Monteiro Leal¹ Eduardo Furtado Flores²
Janio Morais Santurio³

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

A pitiose é uma enfermidade granulomatosa crônica, principalmente do tecido subcutâneo, causada pelo Oomiceto *Pythium insidiosum* que acomete humanos e animais. A espécie equina é a mais atingida, havendo vários relatos da doença no Brasil. A enfermidade destaca-se pela dificuldade de tratamento, representando um risco importante para a vida de animais e humanos afetados. O diagnóstico precoce e correto é fundamental para o sucesso da terapia. A dificuldade de tratamento deve-se à ausência de drogas antifúngicas ativas contra o agente. Recentemente, a imunoterapia tem surgido como uma alternativa terapêutica potencial. Nesse artigo, os aspectos micológicos, epidemiológicos, clínicos e histopatológicos da pitiose nas diferentes espécies são revisados. As técnicas diagnósticas disponíveis e as perspectivas terapêuticas também são abordadas.

Palavras-chave: pitiose, *Pythium insidiosum*, equino, imunoterapia, Oomicetos.

SUMMARY

Pythiosis is a chronic granulomatous disease, mainly of the subcutaneous tissue, caused by the Oomycete *Pythium insidiosum*. The disease affects humans and several domestic animal species, representing a potential hazard to human and animal health. Horses are the most affected species and equine pythiosis has been frequently described in Brazil. The disease is characterized by unresponsiveness to traditional therapies since anti-fungal drugs are not active against *P. insidiosum*. Recently, immunotherapy has emerged as a promising therapy. An early and accurate diagnosis is pivotal

towards a successful treatment. This article reviews the main mycological, epidemiological clinical and pathological aspects of pythiosis in different species. The currently available diagnostic techniques and the therapeutical perspectives are also discussed.

Key words: pitiose, *Pythium insidiosum*, equino, imunoterapia, Oomicetos.

INTRODUÇÃO

A pitiose é uma doença granulomatosa que atinge equinos, caninos, bovinos, felinos e humanos e ocorre em áreas tropicais, subtropicais ou temperadas (MEIRELES *et al.*, 1993; MENDOZA *et al.*, 1996), causada pelo Oomiceto *Pythium insidiosum* (DE COCK *et al.*, 1987). A espécie equina é a mais atingida, principalmente nas formas cutânea e subcutânea, seguido dos caninos (MENDOZA *et al.*, 1996). A enfermidade em equinos caracteriza-se pela formação de granulomas eosinofílicos, com a presença de massas necróticas chamadas de *kunkers* (MENDOZA & ALFARO, 1986; MEIRELES *et al.*, 1993). Em humanos, a doença apresenta-se nas formas oftálmica, subcutânea e sistêmica, sendo as duas últimas associadas a α e β -talassemias, comuns no Sudeste da Ásia (IMWIDHAYA, 1994; IMWIDHAYA, 1995).

¹Médico Veterinário, Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

²Médico Veterinário, Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM.

³Médico Veterinário, Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, 97105-900. E-mail: santurio@ccr.ufsm.br. Autor para correspondência.

Vários tratamentos têm sido utilizados, principalmente em eqüinos, incluindo o uso de métodos químicos (antifúngicos), cirúrgicos e imunoterápicos. A imunoterapia, proposta inicialmente por MILLER (1981), surgiu como uma alternativa concreta para o controle da doença e tem apresentado resultados promissores (MONTEIRO, 1999).

Histórico e taxonomia

O agente da pitiose (*Pythium insidiosum*) é um pseudo-fungo. O primeiro isolamento desse organismo filamentososo foi realizado em 1901 por Haan & Hoogkamer, a partir de granulomas subcutâneos em eqüinos. Esses autores chamaram a doença de "hyphomycoses destruídas", porém não conseguiram classificar o agente. Somente em 1961 o agente foi identificado, recebendo o nome de *Hyphomyces destruens* (MENDOZA *et al.*, 1996). Em 1974, AUSTWICK & COPLAND verificaram a capacidade desse agente em produzir zoósporos biflagelados, permitindo classificá-lo como um fungo da família *Pythiaceae*, ordem *Peronosporales* que deveria ser incluído no gênero *Pythium*. No entanto, a denominação *Hyphomyces destruens* continuou sendo utilizada nas descrições da doença (McMULLAN *et al.*, 1977; MURRAY *et al.*, 1978).

Em 1980, ICHITANI & AMEMIYA compararam as características reprodutivas de diferentes espécies de *Pythium* e classificaram um isolado de eqüino como *Pythium gracile* Middleton, 1943. Em 1987, DE COCK *et al.* analisaram isolados de eqüinos, bovinos, cães e humanos e concluíram que se tratava do mesmo organismo, o qual foi denominado *Pythium insidiosum* e que essa nova espécie era igual as anteriormente descritas (*Pythium sp.* - Austwick e Copland; *Pythium gracile* - Ichitani e Amemiya; e *Hyphomyces destruens* - Bridges e Emmons). Também em 1987, Shipton (MENDOZA & MARIN, 1989) analisou um isolado de eqüino da Austrália e classificou-o como uma nova espécie: *Pythium destruens*. A nomenclatura *Pythium insidiosum* foi definitivamente estabelecida em 1989, quando MENDOZA & MARIN demonstraram que os isolados *P. insidiosum* (De Cock) e *P. destruens* (Shipton) apresentavam o mesmo perfil antigênico.

Embora o nome do agente tenha sido estabelecido, a sua classificação taxonômica continuou sendo discutida nos anos seguintes. Segundo DE COCK *et al.* (1987), os Oomicetos são seres eucariotas produtores de zoósporos biflagelos, característica comum ao *Pythium insidiosum*, incluindo-o na ordem *Peronosporales*, filo *Oomycota* e reino *Protista*. MENDOZA *et al.* (1996), apresentaram o *P. insidiosum* como um

organismo do reino *Chromista*, filo *Pseudo-fungi*, classe *Oomycetes*, ordem *Pythiales*, e família *Pythiaceae*. Entretanto, estudos detalhados sobre a classificação dos fungos dividiram os organismos anteriormente classificados como fungos em três reinos: *Fungi*, *Stramenopila* e *Protista* (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996). Baseado nessa classificação, o agente etiológico da pitiose pertence ao reino *Stramenopila*, filo *Oomycota*, família *Pythiaceae*, gênero *Pythium* e espécie *P. insidiosum*.

Pythium insidiosum

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

Epidemiologia

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

As condições ambientais são fundamentais para o desenvolvimento do organismo no meio ambiente. Para a produção de zoósporos são necessárias temperaturas entre 30 e 40°C e o acúmulo de água em banhados e lagoas (MILLER & CAMPBELL, 1982a). A grande maioria dos casos de pitiose são observados durante ou após a estação chuvosa. Baseados nos dados epidemiológicos, acredita-se na existência de um período de incuba-

ção de várias semanas. No Pantanal Matogrossense, a maioria dos casos de pitiose equina são registrados entre os meses de fevereiro e maio (verão-outono), período que corresponde ao ápice das cheias. A maioria dos 38 casos de pitiose observados por TABOSA *et al.* (1999) na Paraíba, foram registrados nos meses de julho a outubro, sete a dez meses após o início das chuvas.

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

No Brasil, a pitiose já foi descrita em equinos, bovinos e caninos. A maioria dos casos corresponde a lesões cutâneas em equinos. O primeiro relato ocorreu no Rio Grande do Sul, por SANTOS & LONDERO (1974). Os relatos de pitiose equina no Brasil somam mais de 90 casos e têm sido descritos em vários estados como Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco e São Paulo (CARVALHO *et al.*, 1984; SANTOS *et al.*, 1987; MEIRELES *et al.*, 1993;

MORAL *et al.*, 1997; TURY & CORÔA, 1997; TABOSA *et al.*, 1999). Além dos casos publicados, relatos informais de médicos veterinários indicam a presença da doença em vários estados brasileiros. O Pantanal brasileiro é provavelmente o local de maior ocorrência de pitiose equina do mundo (MENDOZA *et al.*, 1996). O Pantanal é uma planície inundável de aproximadamente 140.000km² e possui em torno de 140.000 equinos (SILVA *et al.*, 1995). Embora não existam dados precisos da ocorrência no Brasil, os dados disponíveis indicam que a pitiose representa um problema à criação de equinos, especialmente em regiões alagadiças.

Pitiose em equinos

A doença possui outros nomes como “swamp cancer”, zigomicose, dermatite granular, “bursattee”, “Florida leeches”, granuloma fomicótico e hifomicose (CHAFFIN *et al.*, 1995; FOIL, 1996). Nos estados de MT e MS, o nome popular mais conhecido é “ferida da moda”. O termo hifomicose inclui outras doenças causadas por fungos, especialmente *Conidiobolus ranarum* e *Basidiobolus haptosporum*, além de membros da ordem *Mucorales* (BROWN & ROBERTS, 1988).

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

Histologicamente, a pitiose caracteriza-se por inflamação granulomatosa e granulocítica, enquanto os *kunkers* apresentam-se como coágulos

eosinofílicos, compostos de hifas, colágeno, arteríolas e células inflamatórias, especialmente eosinófilos. A área em torno do coágulo é composta por um exsudato inflamatório espesso de neutrófilos e eosinófilos. Em cortes histológicos corados com coloração especial de prata, pode-se observar as hifas com paredes espessas, esparsamente septadas, irregularmente ramificadas (normalmente em ângulo reto) e medindo de 2 a 6µm de diâmetro (MILLER & CAMPBELL, 1984; BROWN *et al.*, 1988; CHAFFIN *et al.*, 1995).

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

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

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

Pitiose em cães e gatos

Os caninos são a segunda espécie mais atingida pela pitiose, também nas formas cutânea e gastrointestinal. A forma gastrointestinal é a mais comum e manifesta-se com distúrbios digestivos

como vômito, anorexia crônica, perda de peso, diarreia (às vezes sanguinolenta) e presença de massas nodulares, quando submetidos à palpação abdominal (MILLER *et al.*, 1983; SMITH *et al.*, 1989; FISCHER *et al.*, 1994). Os cães afetados são normalmente oriundos de regiões rurais ou estiveram, esporadicamente, em locais alagados (FOIL *et al.*, 1984). As lesões gastrointestinais caracterizam-se pela formação de grandes massas nas paredes do estômago e intestino que são compostas por inflamação granulomatosa e piogranulomatosa com áreas de necrose, intenso infiltrado eosinofílico e presença de hifas (SMITH *et al.*, 1989; FISCHER *et al.*, 1994). O trato digestivo superior também pode ser atingido. PATTON *et al.* (1996) relataram dois casos de esofagite crônica devido à infecção pelo *Pythium insidiosum*, enquanto HELMAN & OLIVER (1999) observaram uma massa na orofaringe, envolvendo a laringe e esôfago cranial.

As lesões cutâneas apresentam-se como dermatite piogranulomatosa ulcerativa, contendo áreas de necrose infiltrada por neutrófilos e macrófagos e granulomas eosinofílicos (FOIL *et al.*, 1984; HOWERTH *et al.*, 1989). O primeiro caso de pitiose canina no Brasil foi descrito por LARSSON *et al.* (1997) e referia-se a uma fêmea com lesão cutânea. Posteriormente, RIET-CORREA *et al.* (1998) descreveram um caso de pitiose entérica.

A pitiose em gatos é rara, havendo poucos relatos na literatura. Um relato refere-se a uma infecção nasal e retrobulbar, sem envolvimento de órgãos internos, cujo diagnóstico baseou-se em imunohistoquímica, sorologia e isolamento do agente (BISSONNETTE *et al.*, 1991). MENDOZA *et al.* (1996) mencionou a ocorrência de novos casos de pitiose em gatos na Flórida.

Pitiose em bovinos

A pitiose bovina também é pouco frequente, havendo apenas dois relatos na literatura. O primeiro nos EUA (MILLER *et al.*, 1985) e o segundo no Pantanal Sul-Matogrossense (SANTURIO *et al.*, 1998). Esses relatos referem-se a lesões cutâneas, geralmente nos membros, caracterizadas por ulcerações, espessamento da derme e edema na região afetada. Histologicamente, as lesões apresentaram-se como granulomas dermais multifocais rodeados por tecido conjuntivo fibroso. No centro dos granulomas havia um pequeno número de hifas ramificadas, sem formação de *kunkers* (MILLER *et al.*, 1985; SANTURIO *et al.*, 1998). Incrustação granular ao redor de porções de hifas, sugestiva de deposição de complexos antígeno-anticorpo, foi observada nos casos

descritos por MILLER *et al.* (1985). O artigo de SANTURIO *et al.* (1998) relata a cura espontânea das lesões.

Pitiose em humanos

A maioria dos casos de pitiose humana foi observada na Tailândia; e esporadicamente nos EUA, Austrália, Haiti e Nova Zelândia. Os primeiros casos foram relatados em 1986, na Tailândia. Segundo IMWIDTHAYA (1994), as infecções por *P. insidiosum* em humanos podem apresentar-se de três formas: 1. lesões granulomatosas no tecido subcutâneo de pacientes talassêmicos. 2. forma sistêmica, caracterizada por desenvolvimento de arterite crônica, trombose arterial e gangrena, atingindo geralmente a extremidade dos membros inferiores de pacientes talassêmicos. 3. ceratite; podendo ou não ser associada à talassemia. SATHAPATAYAVONGS *et al.* (1989) relataram cinco casos de arterite, sendo que dois evoluíram para a ruptura da aorta; dois necessitaram a amputação do membro afetado e um paciente foi curado com ressecção do aneurisma. A evolução desses casos demonstra a gravidade da pitiose arterial em humanos. Dois fatores contribuem para importância da pitiose humana na Tailândia: a alta prevalência da alfa e beta-talassemia e presença de grandes áreas alagadiças utilizadas para a agricultura (IMWIDTHAYA, 1994).

Pitiose experimental

Até o presente, não foi possível reproduzir a enfermidade experimentalmente nas espécies infectadas naturalmente. No entanto, MILLER & CAMPBELL (1983) demonstraram a eficiência de coelhos como modelo experimental para a pitiose. Inoculação subcutânea de água rica em zoósporos produziu nódulos que evoluíram para fibrogranulomas eosinofílicos. Os coelhos inoculados por via intra-peritoneal desenvolveram hepatite severa e peritonite, com áreas de necrose contendo hifas, reação granulomatosa com infiltrado de neutrófilos e eosinófilos. As lesões apresentaram características similares à infecção natural dos equinos.

Diagnóstico

Tradicionalmente, o diagnóstico da pitiose baseava-se nas características clínicas, histopatológicas e no isolamento e identificação do agente através de suas características culturais, morfológicas e reprodutivas. A identificação precoce da doença, no entanto, torna-se difícil através desses métodos. O diagnóstico diferencial inclui habronemose, neoplasia, tecido de granulação exuberante e granulomas fúngicos ou bacterianos

(CHAFFIN *et al.*, 1992). Atualmente, métodos como imunohistoquímica e técnicas sorológicas auxiliam e suportam um diagnóstico precoce e correto (MENDOZA *et al.*, 1996). Em 1988, BROWN *et al.* descreveram pela primeira vez o método de imunohistoquímica para diagnóstico da pitiose equina, que foi posteriormente utilizado por vários autores (HOWERTH *et al.*, 1989; FISCHER *et al.*, 1994; PURCELL *et al.*, 1994).

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

KAUFMAN *et al.* (1990) demonstraram a eficiência da ID para o soro-diagnóstico e diagnóstico diferencial das entomofitomicoses causadas por *Basidiobolus ranarum* e *Conidiobolus coronatus* em humanos e animais, assim como para pitiose.

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

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

Tratamento

O tratamento de infecções pelo *P. insidiosum* em animais e humanos é complicado pelas características do agente, sobretudo sua composição de parede celular. Os fungos verdadeiros possuem quitina em sua parede, enquanto o *Pythium* contém celulose e β -glucanos. A membrana plasmática não contém esteróides,

como o ergosterol, que é o componente-alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas (FOIL, 1996). Devido a essas características, as drogas antifúngicas tradicionais são ineficientes contra o *P. insidiosum* (SATHAPATAYAVONGS *et al.*, 1989; FOIL, 1996). No tratamento químico, as drogas mais utilizadas até o momento foram a anfotericina B, cetoconazole, miconazole, fluconazole e itraconazole, além dos compostos iodínicos como iodeto de potássio e sódio.

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

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

Os resultados obtidos com as drogas antifúngicas tem sido variáveis, tanto *in vitro* como *in vivo*. Em um estudo de SEKHON *et al.* (1992), os poliênicos (anfotericina B, hamycin) não apresentaram atividade satisfatória, enquanto os azólicos fluconazole, cetoconazole e miconazole inibiram o crescimento *in vitro* de isolados de *P. insidiosum*. Em outro teste, as drogas anfotericina B, fluocitosina, miconazole e griseofulvina não inibiram o crescimento do fungo, enquanto o itraconazole apresentou atividade moderada e a terbinafina foi ativa contra o *P. insidiosum* (SHENEP *et al.*, 1998). Nesse estudo, a associação de terbinafina e itraconazole apresentou efeito

sinérgico e foram utilizadas com sucesso no tratamento de um menino com infecção facial. TRISCOTT *et al.* (1993) descreveram o sucesso da anfotericina B no tratamento de dois casos de infecção periorbital em humanos, contrariando os resultados obtidos nos testes *in vitro*.

Imunoterapia

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

Nas décadas de 80 e 90, vários autores utilizaram a imunoterapia. MENDOZA & ALFARO (1986) utilizaram o sobrenadante das culturas como antígeno e obtiveram recuperação de 3 entre 5 animais tratados. MENDOZA *et al.* (1992a) compararam vacinas produzidas com massa celular e com antígeno solúvel concentrado, em 71 equinos afetados, obtendo 60% e 70% de cura, respectivamente. THITITHANYANONT *et al.* (1998) descreveram a utilização com sucesso de um imunoterápico no tratamento de pitiose em um menino talassêmico de 14 anos de idade. MONTEIRO (1999) testou um imunobiológico produzido a partir de culturas do *Pythium insidiosum*, baseando-se na metodologia descrita por MILLER (1981), obtendo índices de cura entre 50% e 83,3%. DYKSTRA *et al.* (1999) relataram o fracasso de várias opções terapêuticas contra a pitiose cutânea canina, incluindo uma vacina autógena produzida a partir de tecido com hifas de um cão com pitiose cutânea.

A patogenia e a resposta imunológica ao *P. insidiosum* ainda são pouco conhecidas. O caráter progressivo da doença em equinos imunocompetentes sugere uma resposta imunológica inadequada ou um bloqueio na resposta imunológica (MILLER, 1981). Esse autor acredita que mesmo sendo antigênicas, as hifas não são completamente reconhecidas pelo hospedeiro, devido à marcante reação inflamatória. Em 1996, MENDOZA *et al.* propuseram o possível mecanismo imunológico desencadeado na pitiose equina. No início da infecção, o *P. insidiosum* liberaria antígenos solúveis que estimulariam a produção de IgE. Essas imunoglobulinas se ligariam à superfície das hifas e ativariam os mastócitos, que liberariam seus fatores quimiotáticos para atrair eosinófilos para o sítio da infecção. Os eosinófilos se ligariam na porção Fc das IgE na superfície das hifas e eventualmente degranulariam, protegendo a hifa do sistema imune.

O mecanismo proposto seria semelhante ao relatado nas infecções parasitárias. Segundo os autores, há evidências da presença de antígenos solúveis dispersos na lesão e não apenas no interior dos *kunkers*.

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

Estudos recentes com *Western immunoblot* sugerem a presença de cinco antígenos imunodominantes no *P. insidiosum* e avaliação de soro equino pré e pós-tratamento (com imunoterápico) não revelou alterações no perfil de IgG durante a imunoterapia. Isso permite um questionamento sobre a real importância desses antígenos na cura dos animais (LEAL, A.; dados não publicados).

MILLER (1981) propôs dois modelos para explicar a ação dos anticorpos. O primeiro seria através de um mecanismo de citotoxicidade dependente de anticorpo e mediado por células, que envolveria linfócitos, macrófagos e talvez eosinófilos ligados a anticorpos, sobretudo IgG. O segundo modelo proposto envolveria anticorpos e o sistema complemento. Os anticorpos específicos estimulados pela vacina ativariam o sistema complemento, danificando a parede celular e promovendo a lise do agente.

MENDOZA *et al.* (1996) acreditam que os mecanismos envolvidos na cura pela imunoterapia, baseiam-se principalmente na resposta celular. Isto é sustentado pelas alterações teciduais após início da imunoterapia, com mudança de inflamação eosinofílica no início para uma resposta mononuclear, mediada por macrófagos e linfócitos T. Os autores acreditam que os antígenos presentes no imunógeno induziriam esta alteração no padrão inflamatório, culminando com a cura dos animais. Entretanto, NEWTON & ROSS (1993) verificaram que o nível de anticorpos anti-*Pythium* aumenta em equinos

doentes submetidos à imunoterapia. De acordo com os autores, o aumento do nível de anticorpos auxiliaria na cura.

CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York : John Wiley & Sons, 1996. Cap.23: Phylum Oomycota: p.683-737.
- ALFARO, A.A., MENDOZA, L. Four cases of equine bone lesions caused by *Pythium insidiosum*. **Equine Vet J**, v.22, n.4, p.295-297, 1990.
- ALLISON, N., GILLIS, J.P. Enteric pythiosis in a horse. **J Am Vet Med Assoc**, v.196, n.3, p.462-464, 1990.
- AUSTWICK, P.K.C., COPLAND, J.W. Swamp cancer. **Nature**, v.250, p.84, 1974.
- BISSONNETTE, K.W., SHARP, N.J.H., DYKSTRA, M.H., *et al.* Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*. **J Med Vet Mycol**, v.29, p.39-44, 1991.
- BROWN, C.C., ROBERTS, E.D. Intestinal pythiosis in a horse. **Aust Vet J**, v.65, n.3, p.88-89, 1988.
- BROWN, C.C., McCLURE, J.J., TRICHE, P., *et al.* Use of immunohistochemical methods for diagnosis of equine pythiosis. **Am J Vet Res**, v.49, n.11, p.1866-1868, 1988.
- CARVALHO, E.C.Q., ROSA, C.A.R., CRUZ, L.C.H., *et al.* "*Hyphomyces destruens*" Agente da "Ferida Brava" (Hifomicose) em equinos do Pantanal de MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, 1984, Cuiabá, MT. **Anais...** Cuiabá: Sociedade de Veterinária do Mato Grosso, 1984. p.311.
- CHAFFIN, M.K., SCHUMACHER, J., HOOPER, N. Multicentric cutaneous pythiosis in a foal. **J Am Vet Med Assoc**, v.201, n.2, p.310-312, 1992.

- CHAFFIN, M.K., SCHUMACHER, J., McMULLAN, W.C. Cutaneous pythiosis in the horse. **Vet Clin North Am: Equine Pract**, v.11, n.1, p.91-103, 1995.
- DE COCK, A.W.A.M., MENDOZA, L., PADHYE, A.A., *et al.* *Pythium insidiosum* sp. Nov., the etiologic agent of pythiosis. **J Clin Microbiol**, v.25, n.2, p.344-349, 1987.
- DYKSTRA, M.J., SHARP, N.J., OLIVRY, T., *et al.* A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs. **Med Mycol**, v.37, n.6, p.427-433, 1999.
- EATON, S.A. Osseous involvement by *Pythium insidiosum*. **Compend Contin Educ Pract Vet**, v.15, p.485-490, 1993.
- FISCHER, J.R., PACE, L.W., TURK, J.R., *et al.* Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. **J Vet Diagn Invest**, v.6, p.380-382, 1994.
- FOIL, C.S.O., SHORT, B.G., FADOK, V.A., *et al.* A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium spp.* **J Am Anim Hosp Assoc**, v.20, p.959-966, 1984.
- FOIL, C.S. Update on pythiosis (Oomycosis). In: THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 1996, Orlando. **Proceedings...** Orlando : Bayer Animal Health, 1996. p.57-63.
- GOAD, M.E.P. Pulmonary pythiosis in a horse. **Vet Pathol**, v.21, p.261-262, 1984.
- GONZÁLES, H.E., TRHEEBILCOK, E., MONTAÑO, J., *et al.* Tratamiento de la ficomicosis equina subcutanea empleando yoduro de potasio. **Rev ICA**, v.XIV, n.2, p.115-121, 1979.
- HELMAN, R.G., OLIVER, J. Pythiosis of the digestive tract in dogs from Oklahoma. **J Am Anim Hosp Assoc** v.35, n.2, p.111-114, 1999.
- HOWERTH, E.W., BROWN, C.C., CROWDER, C. Subcutaneous pythiosis in a dog. **J Vet Diagn Invest**, v.1, p.81-83, 1989.
- ICHTANI, T., AMEMIYA, J. *Pythium gracile* isolated from the foci of granular dermatitis in the horse (*Equus caballus*). **Trans Mycol Soc Japan**, v.21, p.263-265, 1980.
- IMWIDTHAYA, P. Human pythiosis in Thailand. **Postgrad Med J**, v.70, p.558-560, 1994.
- IMWIDTHAYA, P. Mycotic keratitis in Thailand. **J Med Vet Mycol**, v.33, p.81-82, 1995.
- KAUFMAN, L., MENDOZA, L., STANDARD, P.G. Immunodiffusion test for serodiagnosing subcutaneous zygomycosis. **J Clin Microbiol**, v.28, n.9, p.1887-1890, 1990.
- LARSSON, C.E., MEN, M.C., NAHAS, C.R., *et al.* Pitiose canina – Aspectos clínicos e epidemiológicos de caso em São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. p.155.
- LEAL, A.T., SANTURIO, J.M., MONTEIRO, A.B., *et al.* Pitiose equina com envolvimento de linfonodos. In: JORNADA DE PESQUISA, EXTENSÃO E ENSINO, 4, 1997, Santa Maria. **Anais ...** Santa Maria : Universidade Federal de Santa Maria, 1997. p.729.
- LÜBECK, I., FLORES, E.F., LEAL, A.B.M., *et al.* Desenvolvimento de um teste de Dot-blot modificado. In: JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 14, 1999, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Universidade Federal de Santa Maria, 1999. p.609.
- McMULLAN, W.C., JOYCE, J.R., HANSELKA, D.V., *et al.* Amphotericin B for the treatment of localized subcutaneous phycomycosis in the horse. **J Am Vet Med Assoc**, v.170, p.1293-1297, 1977.
- MEIRELES, M.C.A., RIET-CORREA, F., FISCHMAN, O., *et al.* Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. **Mycoses**, v.36, p.139-142, 1993.
- MENDOZA, L., ALFARO, A.A. Equine pythiosis in Costa Rica: Report of 39 cases. **Mycopathologia**, v.94, p.123-129, 1986.
- MENDOZA, L., AJELLO, L., MCGINNIS, M.R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **J Mycol Med**, v.6, n.4, p.151-164, 1996.
- MENDOZA, L., HERNANDEZ, F., AJELLO, L. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. **J Clin Microbiol**, v.31, n.11, p.2967-2973, 1993.
- MENDOZA, L., KAUFMAN, L., MANDY, W., *et al.* Serodiagnosis of human and animal pythiosis using an enzyme-linked immunosorbent assay. **Clin Diagn Lab Immunol**, v.4, n.6, p.715-718, 1997.
- MENDOZA, L., MARIN, G. Antigenic relationship between *Pythium insidiosum* de Cock *et al.* 1987 and its synonym *Pythium destruens* Shipton 1987. **Mycoses**, v.32, n.2, p.73-77, 1989.
- MENDOZA, L., NICHOLSON, V., PRESCOTT, J.F. Immunoblot analysis of the humoral immune response to *Pythium insidiosum* in horses with pythiosis. **J Clin Microbiol**, v.30, n.11, p.2980-2983, 1992b.
- MENDOZA, L., VILLALOBOS, J., CALLEJA, C.E., *et al.* Evaluation of two vaccines for the treatment of pythiosis insidiosos in horses. **Mycopathologia**, v.119, p.89-95, 1992a.
- MILLER, R.I. Treatment of equine phycomycosis by immunotherapy and surgery. **Aust Vet J**, v.57, p.377-382, 1981.
- MILLER, R.I. Investigations into the biology of three 'phycomycotic' agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia**, v.81, p.23-28, 1983.
- MILLER, R.I., CAMPBELL, R.S.F. Clinical observations on equine phycomycosis. **Aust Vet J**, v.58, p.221-226, 1982a.
- MILLER, R.I., CAMPBELL, R.S.F. Immunological studies on equine phycomycosis. **Aust Vet J**, v.58, p.227-231, 1982b.
- MILLER, R.I., CAMPBELL, R.S.F. Experimental pythiosis in rabbits. **Sabouraudia**, v.21, p.331-341, 1983.
- MILLER, R.I., CAMPBELL, R.S.F. The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis. **Vet Pathol**, v.21, p.325-332, 1984.
- MILLER, R.I., OLCOTT, B.M., ARCHER, M. Cutaneous pythiosis in beef calves. **J Am Vet Med Assoc**, v.186, n.9, p.984-986, 1985.

- MILLER, R.I., QUALLS, C.W., TURNWALD, G.H. Gastrointestinal phycomicosis in a dog. **J Am Vet Med Assoc**, v.182, n.11, p.1245-1246, 1983.
- MONTEIRO, A.B. **Imunoterapia da pitiose equina: teste de eficácia de um imunobiológico e avaliação leucocitária em animais infectados naturalmente pelo *Pythium insidiosum***. Santa Maria, 1999. 52p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1999.
- MOORE-LANDECKER, J. **Fundamentals of the fungi**. 4 ed. New Jersey : Prentice Hall, 1996. Cap.3: Zoosporic fungi: p.33-79.
- MORAL, M.S., BINDER, C., JULY, J.R., *et al.* Pitiose cutânea em equinos. **Saúde Equina**, I, n.3, p.14-16, 1997.
- MORTON, L.D., MORTON, D.G., BAKER, G.J., *et al.* Chronic eosinophilic enteritis attributed to *Pythium sp* in a horse. **Vet Pathol**, v.28, p.542-544, 1991.
- MURRAY, D.R., LADDS, P.W., JOHNSON, R.H., *et al.* Metastatic phycomycosis in a horse. **J Am Vet Med Assoc**, v.172, n.7, p.834-836, 1978.
- NEWTON, J.C., ROSS, P.S. Equine pythiosis: An overview of immunotherapy. **Compend Contin Educ Pract Vet**, v.15, n.3, p.491-493, 1993.
- PATTON, C.S., HAKE, R., NEWTON, J., *et al.* Esophagitis due to *Pythium insidiosum* infection in two dogs. **J Vet Internal Med**, v.10, n.3, p.139-142, 1996.
- PINTO, A.M., ALVES, S.H., FLORES, E.F., *et al.* Padronização de um teste ELISA para pitiose. In: JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 14, 1999, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Universidade Federal de Santa Maria, 1999. p.695.
- PURCELL, K.L., JOHNSON, P.J., KREEGER, J.M., *et al.* Jejunal obstruction caused by a *Pythium insidiosum* granuloma in a mare. **J Am Vet Med Assoc**, v.205, n.2, p.337-339, 1994.
- RIET-CORREA, F., FERREIRA, J.L.M., SCHILD, A.L., *et al.* **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico- UFPEL**. Pelotas : UFPEL, 1998. 55p.
- ROSA, P.S., NEWTON, J.C., TRICHE, P. An ELISA test to detect *Pythium insidiosum* infection in horses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20, 1999, Salvador, BA. **Anais...** Salvador : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1999. p.151.
- SANTOS, M.N., LONDERO, A.T. Zigomicose subcutânea em cavalos. **Pesq Agropec Bras-Sér Vet**, v.9, p.7-8, 1974.
- SANTOS, M.N., METZDORF, L.L., BRAGA, M.M., *et al.* Pitiose cutânea em equinos no Rio Grande do Sul. **Pesq Vet Bras**, v.7, n.3, p.57-61, 1987.
- SANTURIO, J.M., MONTEIRO, A.B., LEAL, A.T., *et al.* Cutaneous Pythiosis insidiososi in calves from the Pantanal region of Brazil. **Mycopathologia**, v.141, p.123-125, 1998.
- SATHAPATAYAVONGS, B., LEELACHAIKUL, P., PRACHAKTAM, R., *et al.* Human pythiosis associated with Thalassemia Hemoglobinopathy Syndrome. **J Infect Dis**, v.159, n.2, p.274-280, 1989.
- SEDRISH, S.A., MOORE, R.M., VALDES-VASQUES, M.A., *et al.* Adjunctive use of a neodymium:yttrium-aluminum garnet laser for treatment of pythiosis granulomas in two horses. **J Am Vet Med Assoc**, v.211, n.4, p.464-465, 1997.
- SEKHON, A.S., PADHYE, A.A., GARG, A.K. *In vitro* sensitivity of *Penicillium marneffe* and *Pythium insidiosum* to various antifungal agents. **Eur J Epidemiol**, v.8, n.3, p.427-432, 1992.
- SHENEP, J.L., ENGLISH, B.K., KAUFMAN, L., *et al.* Successful medical therapy for deeply invasive facial infection due to *Pythium insidiosum* in a child. **Clin Infect Dis**, v.27, n.6, p.1388-1393, 1998.
- SILVA, R.A.M.S., AROSEMENA, N.A.E., HERRERA, H.M., *et al.* Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. **Vet Parasitol**, v.60, p.167-171, 1995.
- SMITH, J.B., PADHYE, A.A., MASLIN, W.R., *et al.* Canine pythiosis-isolation and identification of *Pythium insidiosum*. **J Vet Diagn Invest**, v.1, p.295-298, 1989.
- TABOSA, I.M., MEDEIROS, V.T., DANTAS, A.F.M., *et al.* Pitiose cutânea em equídeos no semi-árido da Paraíba. **Arg Bras Med Vet Zoot**, v.51, p.27-30, 1999.
- THITITHANYANONT, A., MENDOZA, L., CHUANSUMRIT, A., *et al.* Use of an immunotherapeutic vaccine to treat a life-threatening human arteritic infection caused by *Pythium insidiosum*. **Clin Infect Dis**, v.27, n.6, p.1394-1400, 1998.
- TRISCOTT, J.A., WEEDON, D., CABANA, E. Human subcutaneous pythiosis. **J Cut Pathol**, v.20, n.3, p.267-271, 1993.
- TÚRY, E., CORÔA, A.C. Pitiose cutânea em equinos no estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. 308p. p.150.