

## Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul<sup>1</sup>

Fabiane B. Grecco<sup>2</sup>, Ana Lucia Schild<sup>3\*</sup>, Pedro Quevedo<sup>2</sup>, Natália D. Assis-Brasil<sup>4</sup>,  
Gláucia D. Kommers<sup>5</sup>, Clairton Marcolongo-Pereira<sup>2</sup> e Mauro Pereira Soares<sup>3</sup>

**ABSTRACT.**- Grecco F.B., Schild A.L., Quevedo P., Assis-Brasil N.D., Kommers G.D., Marcolongo-Pereira C. & Soares M.P. 2009. [Cutaneous pythiosis in cattle in the Southern region of Rio Grande do Sul, Brazil.] Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(11):938-942. Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brazil. E-mail: [alschild@terra.com.br](mailto:alschild@terra.com.br)

An outbreak of cutaneous pythiosis is described in cattle from southern Rio Grande do Sul, Brazil. Cattle were introduced into flooded pastures and developed ulcerative and wet cutaneous lesions on distal limbs and *Planum nasale*. Histologically, the lesions were characterized by multiple granulomas with intralesional hyphae, better seen in the methenamine silver stain, and surrounded by abundant fibrous tissue. Diagnosis was based on epidemiology, gross and histological lesions, and by positive immunohistochemical reaction with anti-*Pythium insidiosum* polyclonal antibody. Morbidity was 23.8% and lesions were observed 15-90 days after cattle were introduced in the flooded area. Affected cattle had spontaneous healing without treatment. It is suggested that the disease is more frequent than what was earlier thought, mainly in flooded areas of the Southern region of the Rio Grande do Sul State.

INDEX TERMS: Oomycetes, *Pythium insidiosum*, epidemiology, cattle, pythiosis.

**RESUMO.**- Descreve-se a ocorrência de pitiose cutânea em bovinos de corte na região sul do Rio Grande do Sul. Os animais foram introduzidos em área alagada e desenvolveram lesões cutâneas ulcerativas e úmidas, de tamanhos variados, localizadas na região distal dos membros e no chanfro nasal. Histologicamente, as lesões eram caracterizadas por múltiplos granulomas com hifas intralesionais, melhor observadas pela coloração de metenamina nitrato de prata de Gomori, e circundadas por abundante tecido conjuntivo fibroso. O diagnóstico foi realizado com base na epidemiologia, lesões macroscópicas e

histológicas e pela reação imuno-histoquímica positiva com anticorpo policlonal anti-*Pythium insidiosum*. A morbidade foi de 23,8% e os animais adoeceram 15-90 dias após a introdução na área alagada. Em todos os casos as lesões evoluíram para a cura sem tratamento. Sugere-se que a doença possa ser mais frequente em bovinos do que se supõe, principalmente em áreas alagadas da região Sul do Rio Grande do Sul.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças causadas por oomicetos, *Pythium insidiosum*, bovinos, pitiose.

### INTRODUÇÃO

Pitiose é uma doença crônica que afeta predominantemente equinos em áreas tropicais, subtropicais ou temperadas (Meirelles et al. 1983, Mendoza et al. 1996), causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum*, organismo classificado no reino Straminipila (Mendoza et al. 2005), filo Oomycota, família Pythiaceae (Alexopoulos et al. 1996).

O microorganismo é essencialmente aquático, e se desenvolve bem quando a temperatura ambiente é superior a 30°C e há abundância de vegetação, se caracterizando pela formação de zoósporos móveis biflagelados responsáveis pela infecção em mamíferos (Miller 1983,

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 24 de abril de 2009.

Aceito para publicação em 11 de agosto de 2009.

<sup>2</sup> Pósgraduando em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário s/n, Pelotas, RS 96010-900, Brasil.

<sup>3</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas, RS. \*Autor para correspondência: [alschild@terra.com.br](mailto:alschild@terra.com.br)

<sup>4</sup> Graduanda da Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas, RS. Bolsista do CNPq.

<sup>5</sup> Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil.

Chaffin et al. 1995). Estes zoósporos são atraídos para os pelos por mecanismo quimiotático e penetram na pele dos animais através de lesões pré-existentes, onde se encistam, iniciando a infecção cutânea (Mendoza et al. 1996). Santurio et al. (1998) sugeriram que o agente penetraria, também, pelos folículos pilosos, sem a necessidade de lesões na pele, com base na observação de hifas do agente em folículos de bovinos afetados. Casos clínicos podem ocorrer o ano inteiro, mas a maioria é observada durante períodos de maior precipitação pluviométrica ou logo após esses períodos (Sallis et al. 2003, Pereira & Meireles 2007).

A doença tem sido relatada em várias espécies como na canina (Mendoza et al. 1996, 2005), na ovina (Tabosa et al. 2004), na felina (Rakich et al. 2005) e aves (Pesavento et al. 2008), é mais frequente porém em equinos. São conhecidos quatro relatos da doença na espécie bovina (Miller et al. 1985, Santurio et al. 1998, Pérez et al. 2005, Gabriel et al. 2008). Há relatos da doença em humanos no Sudeste da Ásia (Imwidthaya 1994) e no Brasil (Marques et al. 2006).

Em bovinos, a doença foi descrita nos Estados Unidos (Miller et al. 1985). No Brasil há um relato da doença de forma esporádica afetando poucos animais no Pantanal Matogrossense (Santurio et al. 1998), e um surto foi recentemente relatado na região Oeste do Rio Grande do Sul, afetando 76 animais (Gabriel et al. 2008). Na Venezuela uma enfermidade conhecida como granulomatose enzoótica bovina, que ocorre em regiões alagadas daquele país foi atribuída a *P. insidiosum* identificado como agente etiológico por meio de técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e sorológicas (Perez et al. 2005). Em ovinos foram relatados dois surtos no Nordeste com 10-33% de morbidade (Tabosa et al. 2004).

As lesões em equinos têm sido bem documentadas (Meireles et al. 1983, Tabosa et al. 1999, Leal et al. 2001a, 2001b, Sallis et al. 2003), observando-se áreas ulceradas de tamanhos variados e coloração branco-amarelada e com múltiplas fístulas que drenam exsudato serosanguinolento. Nessas fístulas de drenagem se observam massas necróticas de material amarelado e endurecido (coralóide) que são denominadas *kunkers*. As lesões geralmente são únicas e afetam aquelas regiões que estão em contato constante com água como porções distais dos membros, região ventral e face (Pereira & Meireles 2007). Nos bovinos (Miller 1983, Santurio et al. 1998) e ovinos (Tabosa et al. 1999), as lesões ulcerativas localizam-se na região inferior dos membros e abdômen, do mesmo modo que nos equinos, porém são mais secas e sem a formação de *kunkers*. Ao contrário dos equídeos, os ovinos e bovinos aparentemente não apresentam prurido (Mendoza & Alfaro 1986, Santurio et al. 1998, Tabosa et al. 1999).

Histologicamente, em equinos a lesão caracteriza-se pela formação de massas necróticas constituídas por eosinófilos (que correspondem aos *kunkers*) em cujo interior encontram-se hifas do microorganismo. Circundando

estas áreas observa-se fibrose intensa e infiltrado inflamatório de eosinófilos, macrófagos e ocasionalmente células gigantes (Meireles et al. 1983, Pereira & Meireles 2007). Em bovinos, as lesões caracterizam-se por granulomas e piogranulomas multifocais com hifas de *P. insidiosum* no centro, circundadas ou não por reação de Splendore-Hoepli (Miller 1983, Santurio et al. 1998, Pérez et al. 2005).

O diagnóstico presuntivo da doença pode ser feito com base na epidemiologia e nos aspectos macroscópicos e microscópicos das lesões. As hifas podem ser demonstradas por exame direto dos *kunkers* em equinos, ou pela impregnação pela prata (Pereira & Meireles 2007). O diagnóstico definitivo pode ser feito pelo isolamento e caracterização de *P. insidiosum* (Chaffin et al. 1995) ou por imuno-histoquímica utilizando anticorpo anti-*P. insidiosum* (Brown et al. 1988).

Os objetivos deste trabalho foram descrever os sinais clínicos e as lesões macroscópicas e histológicas de um surto de pitiose observado em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul, bem como caracterizar os aspectos epidemiológicos que determinaram sua ocorrência nesta região.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos e os sinais clínicos foram estudados em visitas à propriedade localizada no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, onde ocorreu o surto.

Foi realizada biópsia em um bovino afetado cuja lesão tinha aproximadamente 20 dias e parte do material foi encaminhado para exame direto e cultura microbiológica e o restante foi fixado em formol tamponado a 10%, cortado com 5µm de espessura, incluído em parafina e corado pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE) e metenamina nitrato de prata de Gomori (GMS). Cortes histológicos com 3µm em lâminas silanizadas foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica (IHQ) para *Pythium insidiosum*. Os cortes foram desparafinizados, hidratados e submetidos ao bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3% por 20 minutos. A recuperação antigênica foi realizada em forno microondas com TRIS-EDTA (pH 9,0) por 10 minutos. O bloqueio dos sítios inespecíficos foi realizado com leite em pó desnatado a 5% em PBST por 30 minutos. As seções foram incubadas por 60 minutos a 37°C com anticorpo (Ac) policlonal (não comercial) anti *P. insidiosum* produzido em coelho (diluição 1:1000 em PBST). A seguir foram incubadas com Ac secundário biotilado<sup>6</sup> (Dako Cytomation LSAB + Kit-Peroxidase, Código K0690) por 35 minutos em temperatura ambiente. Seguiu-se a incubação com complexo estreptavidina-peroxidase<sup>7</sup> (Dako Cytomation LSAB + Kit-Peroxidase, Código K0690) por 35 minutos em temperatura ambiente. As lavagens entre as principais etapas foram realizadas com PBST. A revelação foi executada com DAB. As seções foram contraincubadas com hematoxilina de Harris por 1 minuto, desidratadas em álcool e montadas em lâminula com resina sintética. Foram utilizadas seções histológicas de caso de pitiose cutânea equina como controle positivo. Como controle negativo substituiu-se o Ac primário por diluente de Ac nas seções testadas.

<sup>6,7</sup> Dako Cytomation, 6392 Via Real, Carpinteria, CA, USA.

## RESULTADOS

### Epidemiologia

A doença ocorreu em uma propriedade do município de Capão do Leão, RS, durante os meses de novembro a março. Os bovinos afetados faziam parte de um rebanho de 67 novilhos que estavam em uma área de 60ha dos quais, aproximadamente 30ha estavam alagados e onde os animais passavam todo o tempo por haver maior disponibilidade de forragem. Os animais estavam divididos em dois lotes. O Lote 1 era constituído de 10 bovinos nascidos na propriedade que estavam em pastagem de azevém e no final de outubro foram transferidos para a área de ocorrência do surto. O Lote 2 era composto de 57 bovinos provenientes do município de Jaguarão, RS, que foram introduzidos no local no mês de novembro. O primeiro caso foi observado em um bovino do Lote 1 aproximadamente 15 dias após a introdução na área. Posteriormente, outros cinco bovinos deste lote foram afetados. No Lote 2 adoeceram 10 animais. Os casos surgiram até 90 dias após o primeiro e a evolução até a formação de cicatriz ocorreu em poucas semanas até dois meses após o aparecimento das lesões iniciais. De acordo com o proprietário, pelo menos um bovino havia sido afetado por lesão semelhante no ano anterior em uma propriedade vizinha, porém o diagnóstico não foi confirmado. No ano 2009, cinco novos casos ocorreram na mesma propriedade do surto descrito em um lote de 230 bovinos nos meses de janeiro e fevereiro.

### Patologia

As lesões estavam localizadas na porção distal dos membros na região metacarpo-falangeana e metatarso-falangeana respectivamente, podendo estar presentes nas faces medial, lateral, cranial ou caudal dessas regiões. As lesões eram observadas em apenas um membro ou afetando tanto os membros anteriores como os posteriores. Havia edema da região adjacente à lesão. Em um

dos bovinos, a lesão estava localizada dorsalmente ao chanfro nasal nas proximidades da narina direita. Os bovinos apresentaram inicialmente pequenas áreas alopecicas e deprimidas de aspecto hemorrágico que ao evoluírem tornavam-se áreas ulceradas, úmidas, hiperêmicas ou hemorrágicas e de tamanhos variados, podendo chegar a 15cm no seu eixo maior. Algumas tinham a superfície irregular com nodulações e hemorragias (Fig.1A) e outras apresentavam a superfície plana, com áreas hiperêmicas ou hemorrágicas (Fig.1B). Em todos os bovinos afetados as lesões regrediram espontaneamente em períodos variáveis de poucas semanas a dois meses, sem a necessidade de tratamento. Logo após o diagnóstico, os bovinos foram retirados do local onde a doença ocorreu e não surgiram novos casos.

Macroscopicamente, o tecido da biópsia era esbranquiçado, firme e com áreas puntiformes acinzentadas na região profunda da derme. No exame direto do material e na cultura microbiológica não houve visualização ou crescimento de agentes etiológicos.

Histologicamente, na derme profunda havia múltiplos piogranulomas constituídos por área central com aglomerados de eosinófilos e poucos neutrófilos rodeados por macrófagos e células gigantes (Fig.2A) que, por sua vez, eram rodeados por uma delicada cápsula de tecido conjuntivo. Nas áreas entre os granulomas havia proliferação de tecido conjuntivo frouxo e neovascularização. No centro de alguns granulomas havia imagens negativas de estruturas tubuliformes e algumas apresentavam ramificações e raras septações. Ao redor dessas estruturas observava-se reação de Splendore-Hoeppli, evidenciada principalmente nos cortes transversais das hifas (Fig.2B). Pela técnica de GMS, as paredes das hifas impregnaram-se em preto (Fig.2C). Havia área ulcerada com infiltrado inflamatório misto e presença de agregados bacterianos na superfície.



Fig.1. Bovinos afetados por pitiose cutânea. (A) Lesão ulcerada na face lateral da porção distal do metatarso. Observa-se superfície irregular com nodulações de coloração escura. Na face caudal observa-se pequena ulceração na mesma região. (B) Lesão ulcerada entre a face lateral e caudal da porção distal do metatarso. Há edema da porção distal do membro.

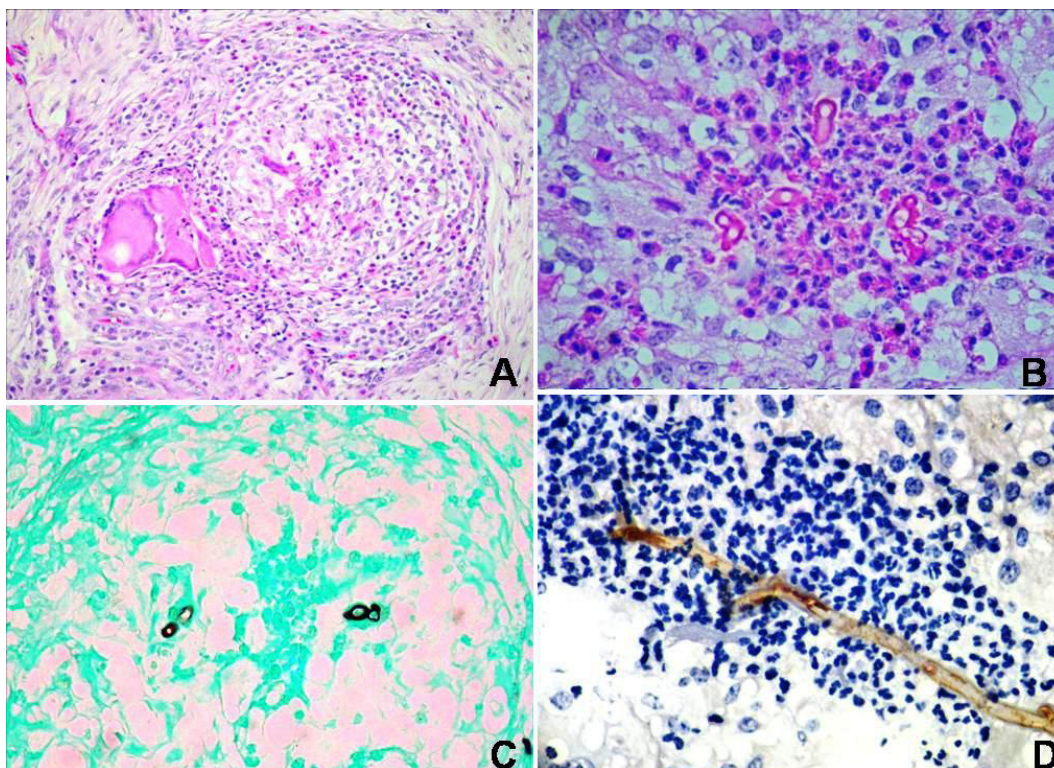


Fig.2. (A) Granuloma com presença de estruturas tubuliformes em meio a infiltrado inflamatório de eosinófilos, neutrófilos e células gigantes. HE, obj.20x. (B) Estruturas tubuliformes mostrando reação de Splendore-Hoeppli. HE, obj.40x. (C) Estruturas tubuliformes impregnadas em preto. Metenamina nitrato de prata de Gomori, obj.20x. (D) Hifa de *Pythium insidiosum* corada em marrom por imuno-histoquímica. Eestreptavidina-biotina peroxidase, obj.40x.

A IHQ utilizando anticorpo policlonal anti-*P. insidiosum* foi positiva evidenciando hifas longas e eventualmente septadas marcadas em marrom na região central dos granulomas (Fig.2D).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O diagnóstico de pitiose cutânea foi confirmado pela marcação das hifas pela técnica de imuno-histoquímica utilizando anticorpo policlonal anti-*Pythium insidiosum*, associado à epidemiologia e lesões macroscópicas e histológicas observadas em biópsia da lesão em um bovino afetado.

A região Sul do Rio Grande do Sul onde foi observado o surto apresenta condições epidemiológicas favoráveis ao aparecimento da doença por ser uma área de campos baixos, planos e sujeitos a alagamentos frequentes. Estas condições são similares às observadas em outros relatos da doença (Miller et al. 1985, Santurio et al. 1998, Tabosa et al. 2004, Sallis et al. 2003). Dados do Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas revelam a ocorrência de 24 surtos ou casos esporádicos da doença em equinos na região em um período aproximado de 30 anos, representando 2,19% dos diagnósticos realizados nessa espécie (Schild et al. 2008). Isto indica que a pitiose equina pode ser considerada endêmica na região.

A doença é considerada pouco freqüente em bovinos. No entanto, a ocorrência de cinco novos casos entre janeiro e fevereiro de 2009 e a possibilidade de ocorrência de pelo menos um caso em uma propriedade vizinha, sugerem que a doença em bovinos possa ser mais freqüente do que se supõe nesta região e não ser diagnosticada em função da regressão espontânea das lesões em um período de tempo relativamente curto.

A lesão histológica característica com a formação de piogranulomas contendo hifas do agente estava localizada profundamente na derme. Este é outro fator que pode contribuir para a não realização do diagnóstico da enfermidade com maior freqüência. Muitas vezes, as amostras de lesões cutâneas de bovinos que chegam ao LRD para análise foram colhidas superficialmente na pele ulcerada e não são profundas o suficiente para a realização do diagnóstico.

O período entre a introdução dos animais na área alagada e o aparecimento do primeiro caso foi de 15 dias e se estendeu pelo menos por dois meses. Aparentemente este é o período de incubação mínimo em bovinos, o que difere da doença nos equinos cujo período de incubação aparentemente é de várias semanas (Leal et al. 2001a, Santurio et al. 2006). A variação de 15 a 90 dias para o aparecimento das lesões no presente surto pode ser explicada pela possível necessidade da presença de lesões

na pele do hospedeiro (Miller 1983), o que determinaria a variação no momento da penetração dos zoósporos de *P. insidiosum* e produção das lesões em cada bovino afetado. A possibilidade de penetração do agente pelos folículos pilosos, sem uma lesão prévia na pele, foi sugerida em uma descrição da doença em dois bovinos (Santurio et al. 1998). No entanto, na biópsia de pele realizada em um bovino deste surto não foram visualizadas hifas nos folículos pilosos. Com base no observado no presente surto pode-se afirmar, portanto, que pelo menos 15 dias são necessários desde a entrada dos bovinos em áreas contaminadas pelo agente até o aparecimento das lesões macroscópicas.

Em uma descrição da doença em bovinos, também no Rio Grande do Sul, foi mencionado que os animais adoeceram após permanecerem em áreas com canais de irrigação por longos períodos, passando parte do tempo passando no interior dos canais (Gabriel et al. 2008). É provável que a variação no período de aparecimento das lesões a partir da entrada dos animais nas áreas alagadas esteja relacionada ao tempo de permanência na água que no presente relato era contínuo. Em trabalhos experimentais em coelhos o período de incubação da doença foi de 25 dias (Pereira et al. 2008). Apesar de existirem equinos na propriedade, esses animais não foram afetados, uma vez que não foram colocados na área alagada.

A alta morbidade da doença nos bovinos (23,8%) caracteriza a ocorrência da enfermidade em forma de surto, o que não foi descrito em relatos anteriores em bovinos (Miller et al. 1985, Santurio et al. 1998). Há, porém, descrição da doença desta forma na Venezuela, onde a pitiose é considerada enzoótica, afetando um grande número de bovinos em regiões alagadas daquele país (Perez et al. 2005). Um surto foi observado na região oeste do Rio Grande do Sul afetando 76 bovinos (Gabriel et al. 2008).

As lesões de todos os bovinos do presente relato evoluíram para a cura sem qualquer tipo de tratamento em um período variável de poucas semanas a dois meses, o que difere da doença em equinos cujas lesões não regredem sem tratamento (Santurio et al. 2006). Nesta espécie o tratamento mais eficiente é a excisão cirúrgica completa da lesão associada ou não a utilização de drogas como iodeto de potássio, ou, ainda, a utilização de imunoterápicos (Leal et al. 2001a). Trabalhos experimentais em coelhos sugerem que a aplicação de imunoterápicos seria a melhor alternativa para o tratamento da doença (Pereira et al. 2008).

**Agradecimentos.**- À Dra. Daniela Brayer Pereira e ao Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI-UFSM) pelo fornecimento do anticorpo utilizado na técnica de imuno-histoquímica.

## REFERÊNCIAS

Alexopoulos C.J., Mims C.V. & Blackwell M. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, New York, p.683-737.

Brown C.C., McClure J.J., Triche P. & Crowder C. 1988. Use of immunohistochemical methods for diagnosis of equine pythiosis. *Am. J. Vet. Res.* 49(11):1866-1868.

Chaffin M.K., Schumacher J. & McMullan W.C. 1995. Cutaneous pythiosis in the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 11(1):91-103.

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.

Imwidthaya P. 1994. Human pythiosis in Thailand. *Postgrad. Med. J.* (70):558-560.

Leal A.T., Leal A.B.M., Flores E.F. & Santurio J.M. 2001a. Pitiose. *Ciência Rural* 31(4):735-743.

Leal A.B.M., Leal A.T., Santurio J.M., Kommers G.D. & Catto J.B. 2001b. Pitiose eqüina no Pantanal brasileiro: aspectos clínico-patológicos de casos típicos e atípicos. *Pesq. Vet. Bras.* 21(4):151-156.

Marques A.S., Bagagli E., Bosco S.M.G., Camargo R.M.P. & Marques M.E.A. 2006. *Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil. *Anais Bras. Dermatol.* 81(5):483-485.

Meireles M.C.A., Riet-Correa F., Fischman O., Zambrano A.F.H., Zambrano M.S. & Ribeiro G. 1983. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. *Mycoses* 36:139-142.

Mendoza L. & Alfaro A.A. 1986. Equine Pythiosis in Costa Rica: Report of 39 cases. *Mycopathol.* 94:123-129.

Mendoza L., Ajello L. & McGinnis M.R. 1996. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *J. Med. Mycol.* 6:151-164.

Mendoza L., Arias M., Colmenarez V. & Perazzo Y. 2005. Intestinal canine pythiosis in Venezuela confirmed by serological and sequencing analysis. *Mycopathol.* 159(2):219-222.

Miller R.I. 1983. Investigations into the biology of three "phycomycotic" agents pathogenic for horses in Australia. *Mycopathol.* 81:23-28.

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

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

Pereira D.B. & Meirelles M.A. 2007. Pitiose, p.457-466. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.

Pereira D.I.B., Santurio J.M., Alves S.H., Azevedo M.I., Silveira F., Costa F.F., Sallis E.S.V., Pötter L. & Ferreiro L. 2008. Comparison between immunotherapy and caspofungin as agents to treat experimental pythiosis in rabbits. *J. Mycol. Médicale* 18:129-133.

Pesavento P.A., Barr B., Riggs S.M., Eigenheer A.L., Pamma R. & Walker R.L. 2008. Cutaneous pythiosis in a nestling white-faced ibis. *Vet. Pathol.* 45:538-541.

Rakich P.M., Grooters A.M. & Tang K.N. 2005. Gastrointestinal pythiosis in two cats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17:262-269.

Sallis E.S.V., Pereira D.B. & Raffi M.B. 2003. Pitiose cutânea em equinos: 14 casos. *Ciência Rural* 33(5):1-8.

Santurio J.M., Monteiro A.B., Leal A.T., Kommers G.D., Sousa R.S. & Catto J.B. 1998. Cutaneous Pythiosis insidiosus in calves from the pantanal region of Brazil. *Mycopathol.* 141:123-125.

Santurio J.M., Alves S.W., Pereira D.B. & Argenta J. 2006. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae* 34(1):1-14.

Schild A.L., Ferreira J.L.M., Ladeira S.R.L., Soares M.P., Grecco F.B., Fiss L. & Marcolongo-Pereira C. 2008. Doenças diagnosticadas no ano 2007. *Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico*. Editora e Gráfica Universitária, UFPel, Pelotas, p.60-65.

Tabosa I.M., Medeiros V.T., Dantas A.F.M., Azevedo E.O. & Maia J.C. 1999. Pitiose cutânea em equídeos no semiárido da Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51:27-30.

Tabosa I.M., Riet-Correa F., Nobre V.M.T., Azevedo E.O., Reis-Junior J.L. & Medeiros R.M.T. 2004. Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brazil. *Vet. Pathol.* 41:412-415.