

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA

PITIOSE SUBCUTÂNEA FELINA: RELATO DE CASO

Autora: Luciana Maria Curtio Soares

Orientadora: Profª. Caroline Argenta Pescador

Relato de caso apresentado ao Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária, Laboratório de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá/MT.

Cuiabá -MT

2017

C978p Soares, Luciana Maria Curtio.
PITIOSE SUBCUTÂNEA FELINA: RELATO DE CASO / Luciana Maria Curtio
Soares. -- 2017
8 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Caroline Argenta Pescador.
TCC (especialização em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Mato
Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Residência Uniprofissional
em Medicina Veterinária, Cuiabá, 2017.
Inclui bibliografia.

1. gato. 2. PCR. 3. *Pythium insidiosum*. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA
Avenida Fernando Corrêa da Costa, 2367 - Boa Esperança - Cep: 78060900 - CUIABÁ/MT
Tel : +55 65 3615 8627

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Pitiose subcutânea felina: relato de caso".

AUTOR: Médica Veterinária Residente Luciana Maria Curtio Soares

Monografia defendida e aprovada em 24/02/2017.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador Doutora Caroline Argenta Pescador
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Caroline A. Pescador

Examinador Interno Mestranda Kalinne Stephanie Bezerra
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Kalinne Stephanie Bezerra

Examinador Interno Mestre Diego Montagner Schenkel
Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Diego Montagner Schenkel

1 **Pitiose subcutânea felina: relato de caso.**

2 **Feline subcutaneous pythiosis: case report.**

3 **Luciana Maria Curtio Soares^I Diego Montagner Schenkel^I Janaina Marcela Assunção**

4 **Rosa^{II} Ludmila Silva Azevedo^I Valéria Dutra^{II} Edson Moleta Colodel^I Caroline Argenta**

5 **Pescador^I**

6 **- NOTA -**

7 **RESUMO**

8 Pitiose em felinos é uma doença de ocorrência rara associada ao *Pythium*
9 *insidiosum*. O objetivo deste relato é descrever as características macroscópicas,
10 histopatológicas e moleculares da infecção por *P. insidiosum* em um gato jovem com uma
11 massa focalmente invasiva no subcutâneo. O felino, desde filhote, apresentava aumento de
12 volume próximo à região retal. O gato morreu após procedimento cirúrgico, sendo realizando
13 a necropsia e coleta de amostras para exame histopatológico. Microscopicamente, observou-
14 se em derme profunda, panículo e musculatura adjacente lesões granulomatosas associadas a
15 imagens negativas, semelhantes a hifas, com ramificações irregulares e raras septações, as
16 quais foram associadas ao *P. insidiosum* através da imuno-histoquímica e PCR. Portanto, a
17 pitiose deve ser considerada no diagnóstico diferencial de patologias de tecido subcutâneo em
18 felinos.

19 **Palavras-chave: Gato, PCR, *Pythium insidiosum*.**

20
21 **ABSTRACT**

22 Pythiosis in felines is a rare disease associated with *Pythium insidiosum*. The aim of this
23 report is to describe the macroscopic, histopathological and molecular characteristics of *P.*

^ILaboratório de Patologia Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Campus Universitário Cuiabá, Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367, Bairro Boa Esperança, 78069-900, Cuiabá, MT, Brasil. Autor para correspondência: lucianacurtio@hotmail.com

^{II}Laboratório de Microbiologia. Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Brasil.

1 *insidiosum* infection in a young cat with a focally invasive mass in the subcutaneous. The
2 feline, since was young, presented an increase of volume near the rectal region. The cat died
3 after a surgical procedure. The necropsy was performed and samples were collected for
4 histopathological examination. Microscopically the skin lesion was characterized by
5 granulomatous dermatitis, panniculitis and myositis associated with negative images, similar
6 to hyphae, with irregular ramifications and rare septations, which were associated with *P.*
7 *insidiosum* through immunohistochemistry and PCR. Therefore, pythiosis should be
8 considered in the differential diagnosis of subcutaneous tissue disorders in felines.

9 **Key words: Cat, PCR, *Pythium insidiosum*.**

10

11 *Pythium insidiosum* pertence ao Reino Stramenopila, Filo Oomycota, Família
12 Pythiaceae e Gênero *Pythium*. Há, no mínimo, 120 espécies de *Pythium* conhecidos
13 distribuídos pelo mundo (MENDONZA & NEWTON, 2005), porém *Pythium insidiosum* é o
14 único agente até agora associado à pitiose em mamíferos. Esta é uma doença não
15 transmissível e tradicionalmente encontrada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas
16 (GAASTRA et al., 2010). No Brasil, a pitiose é mais comum em equinos, ocasionando
17 principalmente lesões disseminadas em pele, narina, linfonodo, pulmão, baço e fígado (REIS
18 JR et al., 2003). Em gatos, a pitiose é rara e geralmente as lesões são restritas à pele e tecidos
19 subcutâneos e não há predisposição por raça, idade ou sexo (GAASTRA et al., 2010). O
20 primeiro relato de infecção causada por *P. insidiosum* em felino foi em 1991, o qual
21 apresentava uma massa no interior das fossas nasais e nasofaringe, estendendo-se para ambas
22 as cavidades orbitárias (BISSONNETTE et al., 1991). Segundo GROOTERS (2003),
23 geralmente gatos novos, com idade inferior a 10 meses são mais comumente afetados, sendo
24 as lesões observadas em tecido subcutâneo, região inguinal, base da cauda, periorbital e por
25 vezes, nas extremidades, centralizadas nos dígitos ou patas. No Brasil, em um estudo

1 retrospectivo sobre a ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos, GALIZA et al.
2 (2014) encontraram um único caso em felino, cujas lesões afetaram o trato gastrointestinal,
3 acometendo intestino delgado, pâncreas, fígado e linfonodos mesentéricos.

4 O objetivo deste relato é descrever os achados clínicos, ultrassonográficos e
5 morfológicos de infecção subcutânea, focalmente invasiva por *P. insidiosum* em um gato.

6 Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso,
7 campus Cuiabá, um felino, fêmea, sem raça definida, 2 anos de idade e com histórico de
8 aumento de volume próximo à região retal, desde os dois meses de idade. Dez meses antes do
9 atendimento teve distocia relacionada ao aumento de volume, realizando-se cesárea.
10 Posteriormente a massa evoluiu, atingindo aproximadamente 10 cm de diâmetro. Durante o
11 exame clínico, observou-se que a massa envolvia as laterais e porção dorsal do ânus e com
12 consistência variando de macia em região periférica e firme em região central. Durante o
13 exame ultrassonográfico da região perianal, observou-se massa heterogênea com conteúdo
14 anecóico com aspecto cavitário, positiva ao recurso Doppler colorido, de contorno e forma
15 indefinida, sugestiva de neoplasia. Durante o procedimento cirúrgico para exérese da massa,
16 verificou-se que esta envolvia bilateral e externamente o reto e era aderida às estruturas
17 adjacentes, dificultando a remoção com margens cirúrgicas de segurança. Fragmentos dessa
18 massa foram encaminhados em solução de formalina 10% para análise histopatológica. O
19 felino veio à óbito no período pós-operatório e, então, foi submetido a necropsia. Notou-se ao
20 exame macroscópico fragmentos de massa castanho-esbranquiçadas, friáveis e lobuladas
21 aderidas à superfície interna da região pélvica, assim como hematomas no tecido subcutâneo
22 circunjacente a incisão cirúrgica. Nos fragmentos removidos durante procedimento cirúrgico,
23 microscopicamente verificaram-se em derme profunda, panículo e musculatura adjacente,
24 áreas multifocais de necrose (figura 1A), com imagens negativas morfolologicamente
25 sugestivas de hifas (Figura 1B), que se evidenciaram pela metenamina de prata de Grocott

1 (GMS) (Figura 1C), com ramificações irregulares e raras septações. Estas estruturas eram
2 circundadas por material eosinofílico (similar à reação de Splendore-Hoeppli) e associadas a
3 severo infiltrado inflamatório composto por macrófagos de citoplasma amplo, levemente
4 eosinofílico e espumoso. Havia também células gigantes multinucleadas, neutrófilos e
5 eosinófilos, além de proliferação de tecido conjuntivo com marcada deposição de colágeno.
6 Para diagnóstico diferencial de pitiose, lagenidiose e zigomicose, secções de 10µm de lesão
7 subcutânea, embebidas em parafina foram encaminhadas para caracterização molecular do
8 agente. A extração de DNA da amostra de parafina foi realizada de acordo com SHI et al.
9 (2004) e a PCR de acordo com UBIALI et al. (2013) utilizando-se os iniciadores PI-1:
10 5''-TTCGTCGAAGCGGACTGCT- 3''; e PI-2: 5''-
11 GCCGTACAACCCGAGAGTCATA-3''; que amplificam um fragmento de 105 pb que
12 codifica uma sequência do gene ITS1 do rDNA de *Pythium insidiosum*. O produto
13 amplificado foi analisado por eletroforese em gel de agarose 2%, e observado em
14 fotodocumentador ChemiDoc™ XRS, utilizando o software ImageLab™, com marcador de
15 massa molecular de 100 pb. O amplicon obtido foi purificado em GFX PCR DNA & amp;
16 GelBand, sequenciado em ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®) utilizando os
17 oligonucleotídeos específicos. A sequência foi analisada pelo programa BLAST (NCBI)
18 obtendo-se 100% de identidade com a sequência de *Pythium insidiosum* (GenBank
19 KP842848).

20 Foi realizado o teste de imuno-histoquímica das secções de tecido subcutâneo
21 selecionadas de acordo com Ubiali et al., 2013 com pequenas modificações. As secções foram
22 cobertas com anticorpo primário anti-*P. insidiosum* (1:500) e foram encubadas à 37°C por 2
23 horas. O anticorpo secundário utilizado foi o sistema conjugado de anticorpo Fosfatase
24 Alcalina (MACH 4 Universal AP Polymer Kit – Biocare Medical) e as amostras foram
25 encubadas por 30 min a temperatura ambiente. O desenvolvimento do substrato ocorreu como

1 o resultado da adição do kit cromógeno Warp Red (Biocare Medical). As secções foram
2 contracoradas com hematoxilina. Houve marcação positiva para hifas de *P. insidiosum*
3 (Figura 1D).

4 O diagnóstico de *P. insidiosum* foi baseado nos aspectos clínicos e histológicos
5 observados. Entretanto, devido à ausência de características patognomônicas (BISSONNETI
6 et al., 1991), a habilidade em diferenciar de outras inflamações granulomatosas e
7 proliferativas é essencial para investigações epidemiológicas, clínicas e patológicas
8 (GROOTERS, 2003). Pitiose, lagenidiose e zigomicose são causadas por agentes etiológicos
9 distintos, mas com características clínicas e histopatológicas similares (GROOTERS, 2003).
10 A pitiose cutânea causa paniculite e dermatite nodular e ulcerativa, portanto recomenda-se
11 para facilitar o diagnóstico à realização de biópsias profundas ao invés das seções superficiais
12 ou punch (GROOTERS, 2003). Além disso, o diagnóstico baseado em cultura de oomicose e
13 zigomicose historicamente tem sido problemático, porque as lesões macroscópicas associadas
14 com pitiose são facilmente confundidas com aquelas causadas por neoplasias ou infecção
15 bacteriana, logo o tecido é fixado completamente e espécimes não são coletadas para cultura
16 (GROOTERS, 2003; RAKICH et al., 2005). No presente caso, a suspeita clínica inicial
17 tratava-se de um processo neoplásico, logo toda a amostra foi fixada em formol a 10%, não
18 sendo possível a realização do exame microbiológico. Recentemente, as técnicas moleculares
19 para o diagnóstico de doenças infecciosas em pacientes humanos e veterinários tem se tornado
20 cada vez mais importante, pois oferecem uma maior especificidade do que a caracterização
21 morfológica de isolados em cultura ou marcação imuno-histoquímica de tecidos infectados
22 (GROOTERS & GEE, 2002). Embora a amplificação específica de sequências de ácidos
23 nucléicos através da PCR tem sido empregada no diagnóstico de inúmeras doenças
24 infecciosas a presença do agente sem a visualização da lesão é insuficiente para o
25 diagnóstico, por isso, a histopatologia aliada a imuno-histoquímica é de grande valia para a

1 confirmação diagnóstica. A ressecção cirúrgica é o tratamento de escolha para pitiose,
2 lagenidiose e zigomicose em pequenos animais. Recidiva local pós-operatória de pitiose e
3 lagenidiose é comum, ocorrendo no local da ressecção ou linfonodos regionais (GROOTERS,
4 2003). Neste felino, não foi possível a ressecção completa da lesão, pois esta envolvia
5 externamente o reto e estava aderida à superfície interna da região pélvica. Em áreas
6 geográficas que favoreçam ao crescimento do *P. insidiosum*, sugere-se que, sempre seja
7 encaminhado a fresco uma amostra para exame microbiológico a fim de instituir o mais breve
8 possível o tratamento adequando ao animal caso se confirme pitiose evitando assim a
9 disseminação para outros contactantes.

10

11 **REFERÊNCIAS**

12

13 BISSONNETI, K.W. et al. Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*.
14 **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v.29, p.39-44, 1991.

15 GAASTRA, W. et al. *Pythium insidiosum*: An overview. **Veterinary Microbiology**, v. 146,
16 p.1-16, 2010.

17 GALIZA, G.J.N. et al. Ocorrência de micoses e Pitiose em animais domésticos: 230 casos.
18 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.3, p.224-232, 2014.

19 GROOTERS, A.M., GEE, M.K. Development of a Nested Polymerase Chain Reaction Assay
20 for the Detection and Identification of *Pythium insidiosum*. **Journal of Veterinary Internal**
21 **Medicine**, v.16, p.147–152, 2002.

22 GROOTERS, A.M. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. **The**
23 **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 33, p.695–720, 2003. doi:10.1016/S0195-
24 5616(03)00034-2

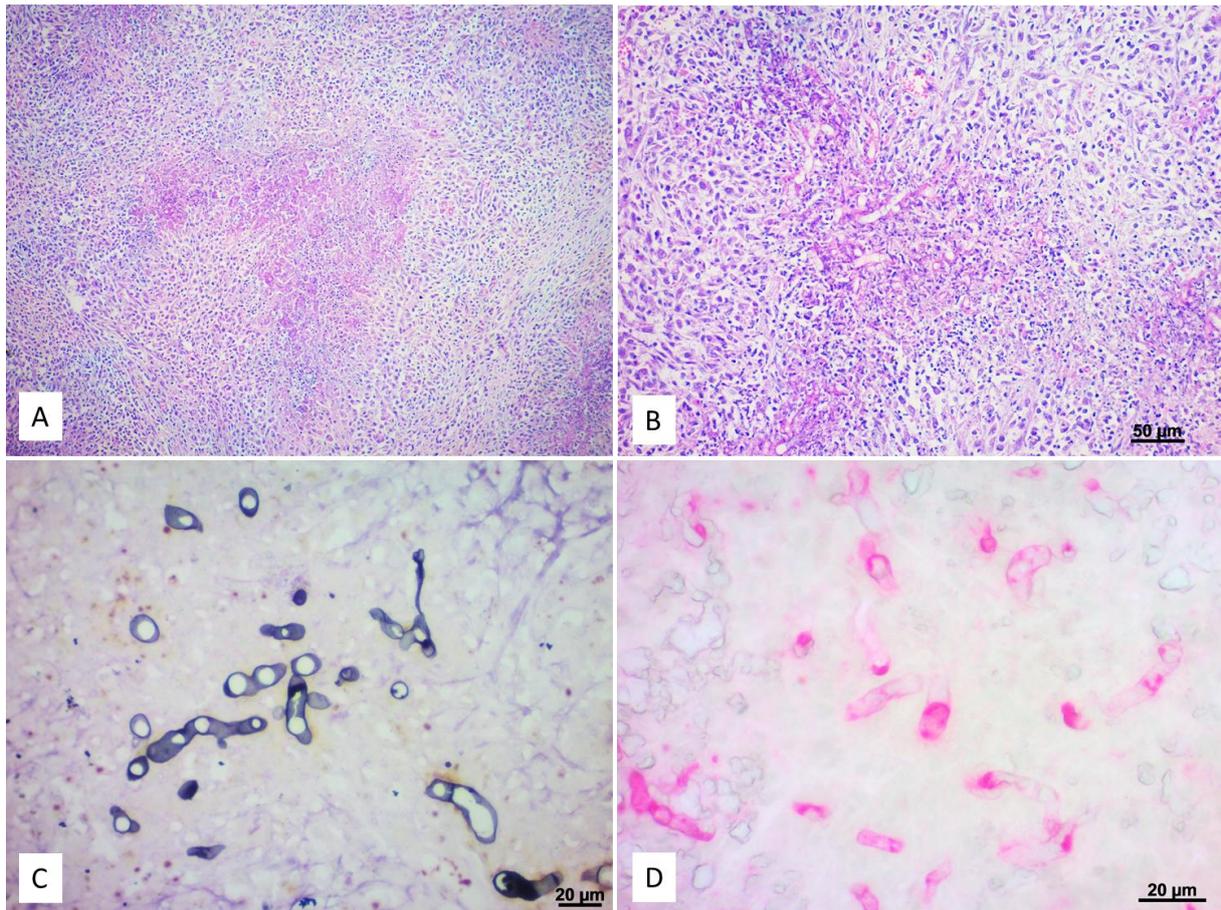
1 MENDONZA, L., NEWTON, J.C. Immunology and immunotherapy of the infections caused
2 by *Pythium insidiosum*. **Medical Mycology**, v.43, p.477-486, 2005. doi:
3 10.1080/13693780500279882

4 RAKICH, P.M. et al. Gastrointestinal pythiosis in two cats. **Journal of Veterinary**
5 **Diagnostic Investigation**, v.17, p.262-269, 2005.

6 REIS JR., J.L. et al. Disseminated pythiosis in three horses. **Veterinary Microbiology**, v.96,
7 p.289–295, 2003. doi:10.1016/j.vetmic.2003.07.005

8 SHI, S.R. et al. DNA extraction from archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissues:
9 heat-induced retrieval in alkaline solution. **Histochemistry and Cell Biology**, v.122, p.211-
10 218, 2004. doi: 10.1007/s00418-004-0693-x.

11 UBIALI, D.G. et al. Pathology of Nasal Infection caused by *Conidiobolus lamprauges* and
12 *Pythium insidiosum* in Sheep. **J. Comp. Path.**, v.149, p.137-145, 2013.
13 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.12.002>
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25



1
 2 Figura 1 - Felino, fêmea, sem raça definida, 2 anos de idade. A. Área de necrose associada à
 3 severo infiltrado inflamatório composto por macrófagos de citoplasma amplo, levemente
 4 eosinofílico e espumoso, células gigantes multinucleadas, neutrófilos e eosinófilos e com
 5 proliferação de tecido conjuntivo. HE, obj. 10x. B. Área de necrose apresentando imagens
 6 negativas, morfologicamente sugestivas de hifas, circundadas por material eosinofílico
 7 (similar à reação de Splendore-Hoeppli). HE, obj. 20x. C. Evidenciação das hifas com
 8 ramificações irregulares e raras septações coradas por GMS, obj. 40x. D. Imunomarcção de
 9 *P. insidiosum*, utilizando-se anticorpo primário anti-*P. insidiosum* (1:500).IHQ, Warp
 10 vermelho, obj. 40x.